



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

EVELYN MONIQUE LIMA ROCHA

**CATALISADOR DE JACOBSEN E FERRO-CYCLAM SUPORTADOS EM QUITOSANA
COMO MODELOS DO CYP450 PARA OXIDAÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS**

***JACOBSEN'S CATALYST AND IRON CYCLAM SUPPORTED IN CHITOSAN AS
CYTOCHROME P450 MODELS FOR TEXTILE DYE OXIDATION***





UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

EVELYN MONIQUE LIMA ROCHA

CATALISADOR DE JACOBSEN E FERRO-CYCLAM SUPORTADOS EM QUITOSANA
COMO MODELOS DO CYP450 PARA OXIDAÇÃO DE CORANTES TÊXTEIS

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Sergipe, para a obtenção do título de Mestre em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Valéria Priscila de Barros

***JACOBSEN'S CATALYST AND IRON CYCLAM SUPPORTED IN CHITOSAN AS
CYTOCHROME P450 MODELS FOR TEXTILE DYE OXIDATION***

Master dissertation presented to the Graduate Program in Chemistry of the Federal University of Sergipe to obtain MSc. in Chemistry



**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

R672c Rocha, Evelyn Monique Lima
Catalisador de Jacobsen e ferro-cyclam suportados em
quitosana como modelos do CYP450 para oxidação de corantes
têxteis / Evelyn Monique Lima Rocha ; orientadora Valéria Priscila
de Barros - São Cristóvão, 2019.
61 f. : il.

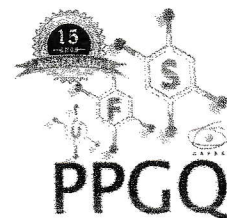
Dissertação (mestrado em Química) – Universidade Federal de
Sergipe, 2019.

1. Química. 2. Catálise heterogênea. 3. Corantes. 4.
Citocromo P-450. 5. Catalisadores. I. Barros, Valéria Priscila
orient. II. Título.

CDU 54



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
Programa de Pós-Graduação em Química
PPGQ



FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Dissertação de Mestrado de Evelyn Monique Lima Rocha apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Sergipe em 29/07/2019.

Valéria Priscila Barros

Prof.ª Dr.ª Valéria Priscila Barros
Departamento de Química do Campus de Itabaiana - UFS

Victor Hugo V. Sarmiento

Prof. Dr. Victor Hugo Vitorino Sarmiento
Departamento de Química do Campus de Itabaiana - UFS

Moacir dos Santos Andrade

Prof. Dr. Moacir dos Santos Andrade
Departamento de Química do Campus de Itabaiana - UFS

RESUMO

A biotransformação de corantes têxteis que ocorre a partir da redução da ligação azo de corantes ou da oxidação catalisada pelo citocromo P450 (CYP450), tem sido estudada devido à formação de subprodutos com potencial carcinogênico, mutagênico e genotóxico. Devido à dificuldade de trabalhar com enzimas, vem se destacando o uso de compostos modelos do CYP450. Esses catalisadores têm sido utilizados ancorados a suportes sólidos que previnem a inativação dos complexos, aumentam a atividade catalítica e seletividade, além de permitir sua reutilização. A quitosana (QT) se destaca entre os demais suportes, pois trata-se de um biopolímero, um composto natural, renovável, biodegradável e com afinidade por íons metálicos. Neste trabalho foram utilizados os catalisadores Ferro-Cyclam (FeCy) e o catalisador de Jacobsen (JBN) como modelos do CYP450 imobilizados em quitosana e aplicados na oxidação dos corantes laranja reativo 16 (LD16), laranja disperso 3 (LD3) e azul de metileno (AM). A partir da caracterização desses materiais suportados, utilizando as técnicas de Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), análises térmicas, e Microscopia Eletrônica de Varredura/Espectroscopia de Energia Dispersiva (MEV/EDS); pôde-se obter evidências de que os catalisadores estão presentes na quitosana sem alterações significativas da estrutura da matriz. Esses materiais foram quantificados utilizando a técnica de FAAS, apresentando valores de $9,0 \times 10^{-6}$ mol de catalisador de Jacobsen e $1,9 \times 10^{-5}$ mol de Fe-Cyclam, por grama de quitosana. Os corantes LR16 e LD3 foram adsorvidos pela quitosana, impossibilitando o estudo da ação dos catalisadores. Com o corante catiônico, AM, pôde-se observar a oxidação do corante e a influência do pH no meio reacional, apresentando melhores resultados em pH 10 e 12. A maior porcentagem de oxidação foi em pH 12 de 88% e 80% na presença do catalisador de Jacobsen e Fe-Cyclam, respectivamente; revelando que os catalisadores JBN-QT e FeCy-QT apresentaram eficiência na oxidação do AM.

Palavras-chave: catálise heterogênea, corantes têxteis, ligantes macrocíclicos, citocromo P450, catalisador de Jacobsen, Fe-Cyclam.

ABSTRACT

Biotransformation of textile dyes resulting from reduction of azo dye binding or cytochrome P450 (CYP450) catalyzed oxidation has been studied due to the formation of byproducts with carcinogenic, mutagenic and genotoxic potential. Due to the difficulty of working with enzymes, the use of CYP450 model compounds has been highlighted. These catalysts have been used anchored to solid supports that prevent complex inactivation, increase catalytic activity and selectivity, and allow their reuse. Chitosan (QT) stands out among the other supports, because it is a biopolymer, a natural, renewable, biodegradable compound with affinity for metal ions. In this work, the Iron-Cyclam (FeCy) and Jacobsen's (JBN) catalysts were used as CYP450 models immobilized on chitosan and applied to the oxidation of reactive orange 16 (LD16), dispersed orange 3 (LD3) and methylene blue (AM) dyes. From the characterization of these supported materials, using Fourier Transform Infrared spectroscopy (FTIR) techniques, thermal analysis, and Scanning Electron Microscopy / Dispersive Energy Spectroscopy (SEM / EDS); Evidence could be obtained that catalysts are present in chitosan without significant changes in matrix structure. These materials were quantified using the FAAS technique, with values of 9.0×10^{-6} mol Jacobsen catalyst and 1.9×10^{-5} mol Fe-Cyclam per gram of chitosan. The dyes LR16 and LD3 were adsorbed by chitosan, making it impossible to study the action of catalysts. With the cationic dye, AM, it was possible to observe the oxidation of the dye and the influence of the pH in the reaction medium, presenting better results at pH 10 and 12. The highest percentage of oxidation was at pH 12 of 88% and 80% in the presence. the Jacobsen and Fe-Cyclam catalyst, respectively; revealing that the catalysts JBN-QT and FeCy-QT showed efficiency in AM oxidation.

Keywords: *heterogeneous catalysis, textile dyes, macrocyclic binders, cytochrome P450, Jacobsen catalyst, Fe-Cyclam.*

*“Ao único Deus sábio seja dada
glória para todo o sempre, por
meio de Jesus Cristo. Amém.”
Romanos 16:27*

AGRADECIMENTOS

A Deus, razão da minha existência, meu Redentor, Pai e Fiel Amigo. Lugar de força e descanso.

Aos meus pais, Geovani e Simone, por uma vida de dedicação e apoio. Ao meu irmão, Samuel, meu amigo mais chegado. Sou grata a vocês por todo suporte e por entender minha “ausência”.

A minha orientadora Dra. Valéria Priscila de Barros pela paciência e dedicação.

Ao Centro de Laboratórios de Química Multiusuários – CLQM, da Universidade Federal de Sergipe – UFS, pelo suporte nas análises de FTIR.

Ao Laboratório Multiusuário do Departamento de Ciência e Engenharia de Materiais – LMDCEM, localizado na Universidade Federal de Sergipe – UFS, pelo suporte nas análises de MEV e EDS, à técnica Shirley pela realização e disponibilidade.

Ao Laboratório de Corrosão e Nanotecnologia – LCNT, localizado na Universidade Federal de Sergipe – UFS, à professora Dra. Eliana Midori Sussuchi, pela utilização da metalizadora e realização da análise de FTIR, e ao aluno José Fernando por realizá-las.

Ao Laboratório de Preparação de Materiais e Magnetismo – LPMM, localizado na Universidade Federal de Sergipe – UFS, ao professor Dr. Cristiano Teles de Meneses, pela disponibilidade da utilização da centrífuga, especialmente aos alunos de pós-graduação e iniciação científica de física por todo apoio operacional e disponibilidade.

Ao Laboratório de Pesquisa em Química II – LAPEQ, localizado na Universidade Federal de Sergipe – UFS, ao professor Dr. Luciano Evangelista Fraga, pelo suporte na análise de pH.

Aos professores Dr. Luciano Evangelista Fraga, Dr. Victor Hugo Vitorino Sarmiento, Dra. Eliana Midori Sussuchi e Dr. Moacir dos Santos Oliveira pelas contribuições dadas nos exames de qualificação e defesa.

Aos técnicos e funcionários da UFS – Campus Itabaiana que sempre se colocaram à disposição. Especialmente à minha prima Raquel, por além de toda ajuda como técnica, me cedeu um espaço em sua casa diversas vezes.

Aos companheiros e amigos de laboratório especialmente Ane, Carlos e Synara por toda ajuda e companheirismo. Aos meus amigos de graduação e mestrado, antigos e novos, que me ajudaram direta ou indiretamente. Em especial, à Mércia, que me ajudou de uma forma inexplicável.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da UFS (PPGQ). A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas do Ensino Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro, ao Conselho Nacional para Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Apoio à Pesquisa e à Inovação Tecnológica do Estado de Sergipe (FAPITEC) pelo suporte para a realização do trabalho.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1 Citocromo P450 – CYP450.....	13
1.1.1 Compostos modelo do CYP450: macrociclo cyclam e complexos salen.....	16
1.2 Quitosana	20
1.3 Corantes	22
1.3.1 Aspecto toxicológico dos corantes têxteis.....	24
1.3.2 Processos oxidativos envolvendo corantes azo.....	26
2. OBJETIVOS	30
2.1 Geral	30
2.2 Específicos	30
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
3.1 Reagentes Utilizados	31
3.2 Síntese dos Materiais	31
3.2.1 Imobilização dos catalisadores Fe-cyclam e catalisador de Jacobsen em quitosana	31
3.3 Caracterização dos catalisadores Fe-cyclam e catalisador de Jacobsen	33
3.3.1 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho.....	33
3.3.2 Análise Termogravimétrica (TG), Termogravimetria Derivada (DTG) e Análise Termogravimétrica Diferencial (DTA).....	33
3.3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS).....	33
3.3.4 Espectrofotometria Molecular UV-vis	34
3.3.5 Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (FAAS).....	34
3.4 Estudo da oxidação dos corantes LR16, LD3 e AM catalisada pelos catalisadores suportados FeCy-QT e JBN-QT	35
4.1 Características morfológicas, estruturais e térmicas da quitosana e dos catalisadores Fe-cyclam e catalisador de Jacobsen.....	36
4.1.1 Microscopia eletrônica de varredura e Espectroscopia de energia dispersiva	36
4.1.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier	38
4.1.3 Análise Termogravimétrica	40
4.2 Análise quantitativa.....	42
4.3 Estudo por espectrofotometria molecular UV-Vis dos corantes LR16, LD3 e AM	43
4.4 Estudo por espectrofotometria molecular UV-Vis da oxidação dos corantes LR16, LD3 e AM catalisada pelos complexos JBN-QT e FeCy-QT.....	47
5 CONCLUSÕES	55
REFERÊNCIAS	56

1. INTRODUÇÃO

Os sistemas *in vivo* baseiam-se em estruturas complexas e as reações de oxidação ocorrem pela ação catalítica de metaloenzimas, como por exemplo, o citocromo P450, a peroxidase e a catalase. Os centros prostéticos (ou grupo heme) destas enzimas têm sido utilizados como modelo para a síntese de complexos metálicos com propriedades catalíticas semelhantes [1-3]. Para o citocromo P450 o grupo heme é uma metaloporfirina, a protoporfirina IX complexada com íon ferro. Metaloporfirinas sintéticas, catalisador de Jacobsen e macrociclo cyclam foram introduzidos na catálise oxidativa e têm sido utilizados como modelos do citocromo P450 para a oxidação de vários compostos, tais como alcanos, hidrocarbonetos aromáticos, drogas, pesticidas, corante entre outros [1,4-6].

Embora muitos estudos mostrem que estes complexos em meio homogêneo apresentam um bom desempenho catalítico na oxidação de diferentes compostos, outros estudos também mostram algumas desvantagens tais como, dificuldade de recuperação do catalisador para reuso, destruição oxidativa do catalisador e inativação das espécies pela formação de espécies não catalíticas [4,5]. A imobilização destes complexos em suportes rígidos e inertes tem sido investigado como alternativa viável e muitas vezes de baixo custo, para minimizar os problemas apresentados na catálise homogênea. Além disso, estes suportes podem atuar como a matriz proteica do citocromo P450 [4,6]. Dentre os suportes a quitosana tem se destacado por sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e não-toxicidade. Este biopolímero é obtido a partir da desacetilação da quitina, que é retirada da carapaça de crustáceos e possui grupamentos amina e hidroxila reativos capazes de sofrer modificações químicas [7,8]. Os grupos amina da quitosana são facilmente protonados em meio ácido, facilitando a solvatação em água e possibilitando uma afinidade por íons metálicos, contribuindo assim para a imobilização de diversos complexos [7-10].

Esses complexos imobilizados vêm sendo utilizados na oxidação de diversos compostos, como por exemplo, os corantes têxteis que têm sido associados a diversos problemas ambientais e de saúde humana, como efeitos mutagênicos, carcinogênicos e genotóxicos, decorrente da presença desses corantes nos corpos hídricos. Quando oralmente administrados, esses corantes são catalisados pelas enzimas citocromo P450, que é responsável por reações de redução e/ou oxidação, obtendo como subprodutos compostos derivados de aminas aromáticas [11].

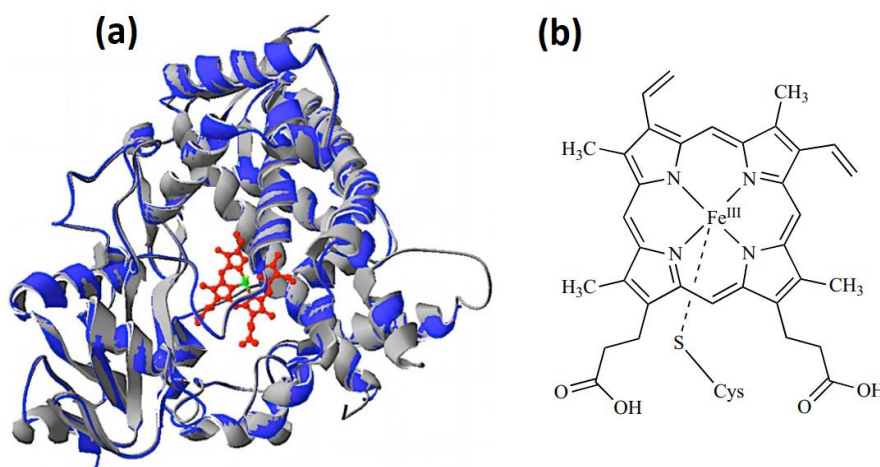
Tendo em vista a problemática dos corantes têxteis associado a produção de compostos com efeitos mutagênicos, carcinogênicos e genotóxicos quando na presença do citocromo P450, este trabalho teve como objetivo a utilização dos complexos metálicos Fe-Cyclam e catalisador de Jacobsen, imobilizados em quitosana, como modelos bioinspirados no citocromo P450 para a oxidação de corantes têxteis.

1.1 Citocromo P450 – CYP450

O CYP450 é uma classe de enzima que desempenha um importante papel no metabolismo de compostos considerados xenobióticos, substâncias estranhas ao organismo, que podem ser de origem natural ou sintética, como drogas, poluentes ambientais, fármacos, metais pesados, aditivos alimentares, anestésicos e toxinas, assim como algumas substâncias endógenas como colesterol, ácidos biliares, esteroides, vitaminas lipossolúveis e ácidos graxos [1-3,5].

A estrutura do CYP450 apresenta duas partes: a matriz proteica, constituída de uma cadeia polipeptídica e da estrutura apoproteína, na qual o substrato se fixa; e o sítio catalítico, com um grupo prostético heme (ferroprotoporfirina IX) (Figura 1a), em que o íon ferroso está coordenado no lado proximal ao grupo tiolato de uma cisteína (Figura 1b) e no lado distal (quando em repouso) a uma molécula de água, na qual se encontra o sítio ativo responsável pela ativação do oxigênio molecular [1,3,5].

Figura 1. (a) Representação do CYP450 destacando o grupo prostético heme da Ferro(III) protoporfirina IX. (b) Fe(III) porfirina com um cisteinato como ligante axial.



Fonte: Chapman, 2015 [1]

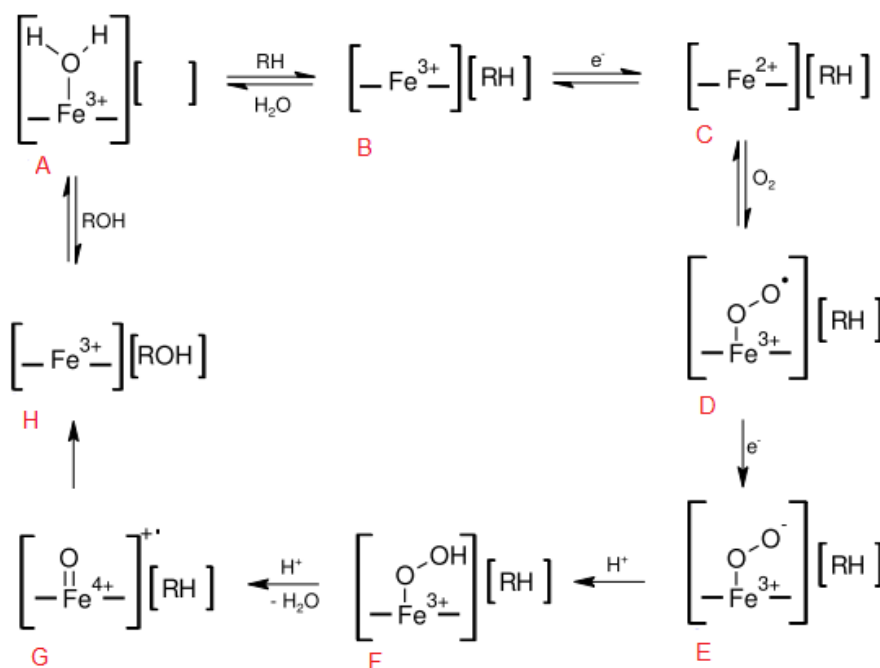
Estas enzimas constituem uma superfamília de heme-proteínas presentes em bactérias, fungos, plantas, peixes, insetos, aves e mamíferos. Em um mesmo organismo, podem ser encontradas, no retículo endoplasmático dos intestinos delgado e grosso, no fígado, e nas mitocôndrias de tecidos [2]. Os seres humanos apresentam 57 isoformas do CYP450 e cerca de um terço destas, encontram-se presentes no fígado [2].

As reações catalisadas pelo citocromo P450 são referidas como monooxigenações (Equação 1), pois ocorre a adição de um átomo de oxigênio molecular ao substrato, utilizando dois elétrons do sistema microssomal do CYP450, o β -Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato (NADPH) [1,2,5].



Embora haja uma grande quantidade de substratos a serem oxidados por essa enzima, todos os CYP450 possuem um ciclo catalítico comum (Figura 2).

Figura 2. Ciclo catalítico proposto para o CYP450.



Fonte: Adaptada de Chapman, 2015 [1]

Inicialmente, o íon metálico (Fe³⁺) encontra-se em um estado de baixo spin, coordenado ao ligante proximal (tiolato), ao ligante distal (água) e a quatro átomos de nitrogênio dos anéis imidazólicos, conferindo ao íon um número de coordenação 6 (**A**). Com a entrada do substrato (RH) há um deslocamento do ligante água (**B**), causando uma mudança do número de oxidação do ferro do grupo heme permitindo a transferência de um elétron do NADPH ou NADH por uma redutase, de modo que o ferro presente na estrutura da enzima reduz a (Fe²⁺) (**C**). Ao apresentar este estado de oxidação, o Ferro (II) pode se ligar à molécula de oxigênio, formando o complexo intermediário hexacoordenado de baixo spin (**D**). Uma segunda transferência de elétrons reduz este intermediário, ocasionando a formação da espécie (**E**), que é muito lábil e após a protonação forma um complexo Fe³⁺ hidroperoxido (**F**). Essa espécie sofre uma cisão heterolítica da ligação O-O, gerando o complexo responsável por catalisar a maior parte das reações do CYP450, Fe⁴⁺oxoporfirina-π-cátion [Fe⁴⁺O]⁺⁺ (**G**). A espécie reativa formada em **G** oxida o substrato e origina o produto oxidado **H**. A dissociação do produto e o reequilíbrio com a água retoma à formação da enzima com a configuração **A**. A espécie **A** pode ser transformada diretamente em **H** na

presença de oxidantes, e esse caminho é chamado de “desvio do peróxido” ou “ciclo catalítico curto do P450” [1,3].

Na década de 70 foi descoberto que o CYP450 poderia catalisar a hidroxilação de hidrocarbonetos na presença de doadores simples de oxigênio, como por exemplo, H_2O_2 , NaClO e iodosilbenzeno sem a presença do NADPH. Essa descoberta, chamada de “ciclo catalítico curto do CYP450”, e as dificuldades ao se trabalhar com enzimas levaram ao desenvolvimento de sistemas modelos para o CYP450 [1,3].

As metaloporfirinas são análogas ao grupo prostético do CYP450 (Figura 1b) e têm sido estudadas há mais de 30 anos como catalisadores de uma variedade de reações de oxidação com vários doadores de oxigênio [1,5,12].

Em geral a espécie ativa nas oxidações por metaloporfirinas é a Fe^{4+} oxoporfirina- π -cátion $[\text{Fe}^{4+}\text{O}]^{*+}$ (Figura 2G), gerada pela reação do complexo metal(III)porfirina com o átomo de oxigênio do oxidante, mimetizando assim o “ciclo catalítico curto do CYP450”.

Apesar das metaloporfirinas serem modelos fiéis do CYP450, esses complexos possuem algumas desvantagens: (i) a dificuldade de síntese e purificação torna o método de obtenção dispendioso e (ii) a alta atividade catalítica não atinge níveis necessários para sua utilização na indústria [12,13]. Alguns complexos sintéticos como o catalisador de Jacobsen [4,7,10] e ligantes macrociclo do tipo cyclam [14,15] têm sido sintetizados com o interesse particular de mimetizar propriedades catalíticas dessas enzimas.

1.1.1 Compostos modelo do CYP450: macrociclo cyclam e complexos salen

Macrociclo cyclam

Os ligantes macrocíclicos são grandes moléculas cíclicas que possuem nove membros ou mais, com a presença de, no mínimo, três átomos doadores [15]. Em 1968, foi observado por Curtis uma elevada estabilidade do produto de condensação do tris(etilenodiamino)níquel(II), $[\text{Ni}(\text{en})_3]^{2+}$, com acetona. Quando ligados a metais de transição, as macromoléculas cíclicas apresentam-se cineticamente inertes, termodinamicamente estáveis e seletivas. A estabilidade desses compostos pode ser associada aos efeitos quelato e macrocíclico, o primeiro efeito está relacionado ao número

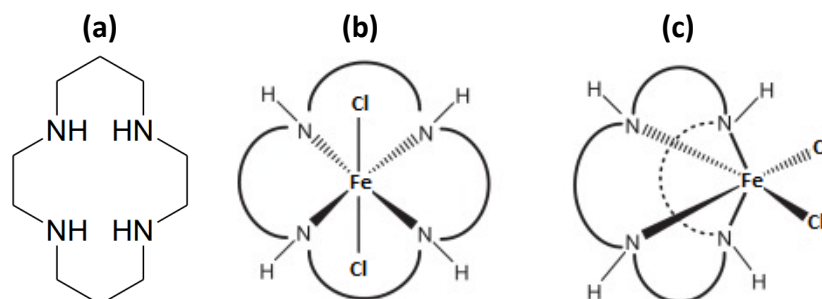
de átomos doadores ligados ao centro metálico e é, principalmente, um efeito entrópico. O segundo efeito está associado à natureza do ciclo dos ligantes e é uma combinação do efeito entrópico com uma contribuição energética vinda desses ligantes [16].

O interesse pelo estudo dos complexos macrocíclicos aumentou ainda mais ao identificarem a presença desses compostos em diversos sistemas biológicos, como por exemplo, mecanismo de fotossíntese e transporte de oxigênio em mamíferos [15].

Os compostos tetraazomacrociclos, do grupo azamacrociclo, estão entre os primeiros complexos macrocíclicos a serem sintetizados. Em 1937, Van Alphen sintetizou o 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano (cyclam) a partir da reação entre o 1,3-dibromopropano e o 1,3-bis(2-aminoetilamino)-propano em meio básico (Figura 3) [17], sendo compostos versáteis e utilizado na síntese de outros compostos que apresentam atividade biológica, como por exemplo, o complexo não heme *cis*[Fe(cyclam)Cl₂]Cl [14].

O cyclam é constituído por um anel macrocíclico saturado contendo quatros átomos de nitrogênio doadores, que resulta em um anel com 14 membros. Esse ligante coordena-se a centros metálicos por meio de quatro átomos de nitrogênio. Dessa forma, em complexos com um número de coordenação igual a seis, como o ferro, tal coordenação disponibiliza duas posições lábeis na esfera, possibilitando a síntese de duas formas isoméricas, *cis* e *trans* (Figura 3) [14,18].

Figura 3. Estrutura molecular: (a) 1,4,8,11-tetraazaciclotetradecano (cyclam), (b) *trans*[Fe(cyclam)Cl₂]Cl e (c) *cis*[Fe(cyclam)Cl₂]Cl.



Fonte: Adaptada de Doro, 2016 [18]

Doro e colaboradores realizaram uma revisão da literatura dos complexos tetraazamacrociclos com o Ru(IV) e Ru(V), relatando suas características singulares, como a hexacoordenação com ambos estados de oxidação e seus aspectos químicos, fotoquímico e atividade biológica. Além disso, apresentam a grande aplicabilidade dos complexos cyclam e sua relevância para a química de coordenação devido sua estabilidade termodinâmica e possibilidade de coordenar-se a diversos metais (Ru, Fe, Cr, Co, Rh, Ni, Zn, Cu) [18].

Pariyar e colaboradores estudaram a intercalação do *cis*-[Fe(cyclam)Cl₂]Cl em montmorilonita K-10. A reatividade do sistema heterogêneo na hidroxilação do ciclohexano utilizando H₂O₂ foi significativamente melhor que o sistema homogêneo, além de uma alta seletividade para a formação do álcool correspondente [14].

Complexos Salen

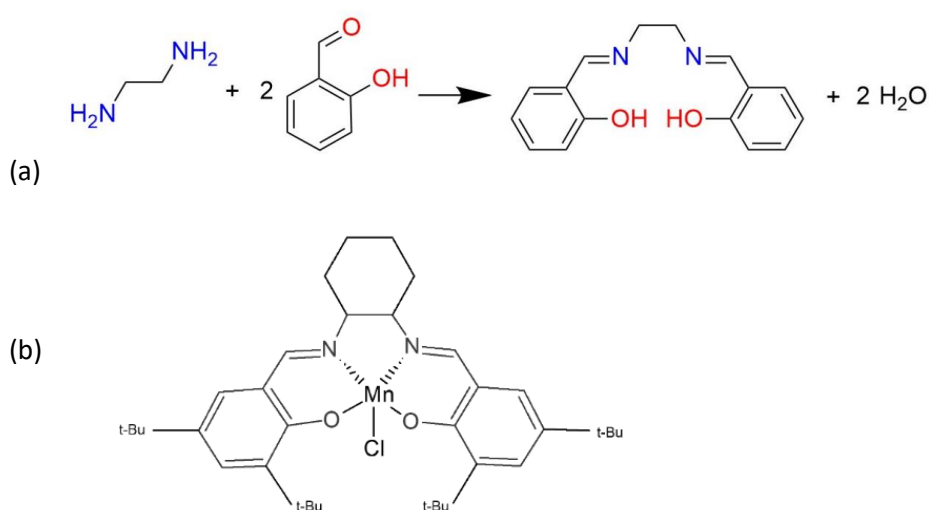
Os compostos denominados de iminas ou azometinas são muitas vezes conhecidos como bases de Schiff, pois foram sintetizadas pela primeira vez por Hugo Schiff, em 1864. Essas iminas são tipicamente formadas pela condensação de uma amina primária com um composto carbonílico ativo e possuem o grupo cianeto em suas estruturas [6,19-21].

Essas bases são estáveis, podem ser sintetizadas facilmente e são capazes de catalisar uma série de reações, como a epoxidação de alcenos, oxidação de álcoois, oxidação de fármacos e etc., sendo que estas dependem do íon metálico central. O grupo cianeto sozinho não forma complexos, fazendo-se necessária a presença de outros sítios de coordenação para a formação um anel de cinco a seis membros para coordenarem-se ao íon metálico, estabilizando o complexo [6,19-21].

Em 1869, Schiff produziu o N,N'-bis(salicilideno)etilenodimina através da reação entre aminas primárias e o 2-hidroxibenzaldeído(salicilaldeído), resultando na base quelante conhecida como salen (Figura 4) [6,19-21]. O complexo N,N'-bis(3,5-di-tercbutilsalicideno)-1,2-cicloexanodiaminomanganês(III), conhecido como catalisador de Jacobsen (Figura 4), é uma das formas modificadas do grupo salen e é amplamente utilizado em catálise, apresenta estrutura quiral, tendo como centro metálico o manganês e a presença de grupos *terc*-butil e substituinte cicloexano [6,19]. O complexo pode ser sintetizado facilmente, propiciando o preparo em larga escala e com baixo custo, o que torna sua produção

industrialmente viável [19]. Entretanto, apesar do excelente comportamento catalítico do catalisador de Jacobsen, quando em condições oxidativas prolongadas, pode-se observar uma degradação desse ligante, resultando em uma baixa produtividade. De modo a minimizar esse problema, tem crescido o estudo do catalisador de Jacobsen imobilizado em matrizes de natureza orgânica ou inorgânica [6,9,19].

Figura 4. (a) Reação de formação do ligante salen, (b) Estrutura molecular do cloreto de N,N'-bis(3,5-di-tercbutylsalicideno)-1,2-cicloexanodiaminomanganês(III), conhecida como catalisador de Jacobsen.



Fonte: Adaptada de Erxleben, 2018 [19,21]

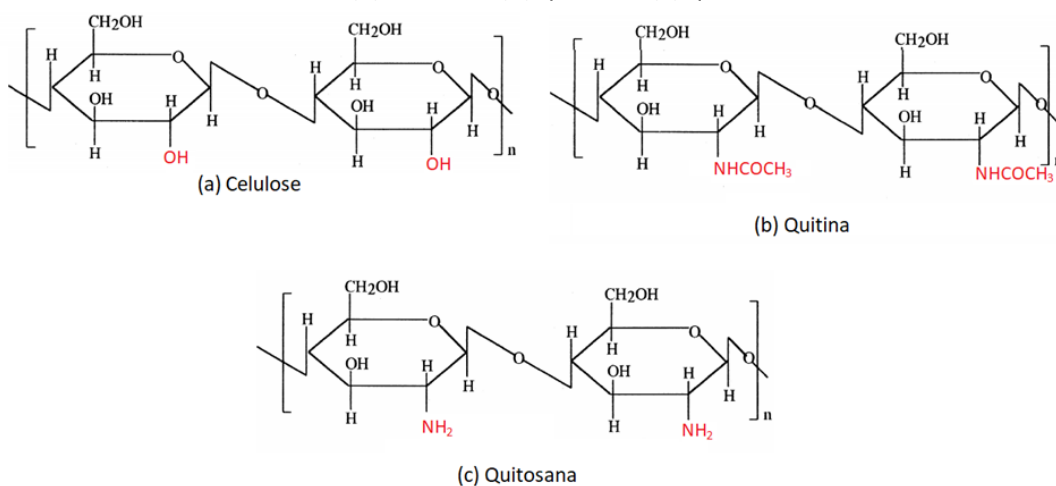
A imobilização de complexos metálicos em suporte diminui a inativação do catalisador e facilita a recuperação do material. Além disso, confere maior estabilidade, eficiência, seletividade catalítica e resistência à degradação, facilitando a separação do catalisador do meio reacional [6,9,19].

Diversos trabalhos na literatura utilizam suportes a base de sílica, alumina, argilas, gelatina, quitina, quitosana, dentre outros, obtendo bons resultados catalíticos e recuperação do complexo metálico [4,7,6,9,10,14,19]. A quitosana tem se destacado dentre os demais suportes por ser um material biodegradável, renovável e de baixo custo [7-10].

1.2 Quitosana

A quitina, 2-(acetamino)-2-desoxi-D-glicose, é o segundo biopolímero mais abundante na natureza, perdendo apenas para a celulose (Figura 5a). Esse biopolímero pode ser obtido a partir do exoesqueleto de crustáceos, insetos, aracnídeos e moluscos, sendo este último a sua principal fonte [7]. Assim como a quitina, a quitosana (Figura 5c) possui similaridade estrutural com a celulose, diferenciando-se apenas em seus grupos funcionais, em que se verifica a presença de grupos amina para a quitosana e de grupos hidroxila para a celulose [7,10].

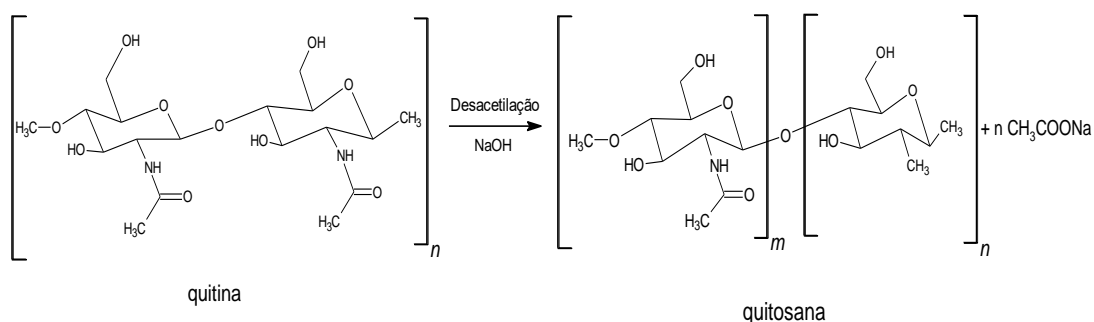
Figura 5. Estruturas moleculares: (a) celulose, (b) quitina e (c) quitosana.



Fonte: Adaptada Zagar 2015 [7]

A quitina possui em sua estrutura grupos acetamida que sofrem uma desacetilação, formando grupos amina (Figura 6). Quando há pelo menos 50% da estrutura da quitina desacetilada, obtêm-se a quitosana [7]. Este biopolímero pode variar sua massa molar, as impurezas presentes e o grau de desacetilação (GD). Este parâmetro é relevante para a obtenção da quitosana, pois expressa o conteúdo médio de resíduos presentes em sua estrutura, de modo a influenciar em suas características químicas, físicas e biológicas, tais como, solubilidades, viscosidade, hidrofobicidade e capacidade de reticulação [7,10].

Figura 6. Reação de obtenção da quitosana a partir da desacetilação da quitina.



Fonte: Zagar 2015 [7]

A desacetilação da quitina pode gerar diferentes configurações de quitosana possibilitando seu emprego na imobilização de enzimas. Todavia, as formas de hidrogéis e membranas são as mais utilizadas, pois apresentam alterações físicas ideais para o processo de imobilização de enzimas, como o aumento dos poros desse suporte [9,22,23].

A quitosana apresenta a vantagem de ser um produto renovável, natural, de baixo custo, biodegradável, biocompatível, não-tóxico e sua utilização ainda reduz o impacto ambiental causado pelos resíduos das indústrias pesqueiras [7,24]. Esse biomaterial é solúvel em meio ácido, sendo o ácido acético, o ácido fórmico e o ácido cítrico os mais utilizados para a sua solubilização. Quando dissolvida, a quitosana possui carga parcial positiva sobre os grupos amino (NH_2), facilitando sua solvatação por moléculas de água. Além disso, possui a capacidade de agregar-se a compostos polianiônicos e a íons metálicos [7,25,26].

Saikia e colaboradores sintetizaram um complexo de peróxido de vanádio ancorado em quitosana que apresentou estabilidade térmica, tolerância a água e excelentes resultados na oxidação seletiva de tioéteres utilizando o peróxido de hidrogênio como agente oxidante [27].

Abdulhameed e colaboradores utilizou a quitosana reticulada com tripolifosfato e com adição de TiO_2 para ser utilizada como biossorvente do corante laranja reativo 16, apresentando uma alta eficiência de remoção desse corante (92,7%) [28]. Rahmi e colaboradores utilizaram esferas de quitosana reticuladas com H_2SO_4 e Fe_3O_4 para a remoção do corante azul de metileno da água. Os resultados apresentaram uma maior

capacidade de adsorção com a proporção de 0,35 g de quitosana, 0,5 g de Fe_3O_4 e 0,02 M de H_2SO_4 , obtendo 20,408 mg/g de capacidade máxima de adsorção do corante [29].

1.3 Corantes

Pigmentos e corantes são substâncias obtidas de fonte natural ou sintética e são utilizadas para colorir diversos substratos. A diferença entre ambos está na forma como são aplicados ao substrato, os pigmentos necessitam de um composto adicional para que possam ser incorporados ao substrato, enquanto os corantes podem ser aplicados diretamente nos substratos [30].

Essas substâncias conferem cor a um substrato e absorvem energia de comprimentos de onda na região do visível (400 a 700 nm). A principal estrutura responsável pela absorção da luz, é o grupo cromóforo (Tabela 1), que possuem elétrons deslocalizados com ligações duplas conjugadas [30,31]. A deslocalização eletrônica também é promovida por anéis de benzeno ou naftaleno. Os cromóforos geralmente contêm heteroátomos como N, O e S, com elétrons não ligados. Ao incorporar esses elétrons ao sistema não-localizado nos anéis de arila, a energia da nuvem eletrônica é modificada, o comprimento de onda da radiação absorvida muda para a faixa do visível, conferindo cor ao composto [30,31].

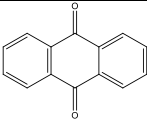
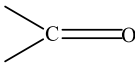
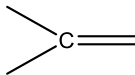
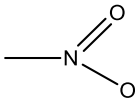
Além dos grupos cromóforos, os corantes contêm grupos auxocromos: amino ($-\text{NH}_2$), metilamino ($-\text{NHCH}_3$), ácido sulfônico ($-\text{SO}_3\text{H}$), carboxila ($-\text{COOH}$), cloro ($-\text{Cl}$), metila ($-\text{CH}_3$), metoxila ($-\text{OCH}_3$), ciano ($-\text{CN}$), acetila ($-\text{COCH}_3$), amido ($-\text{CONH}_2$) e hidroxila ($-\text{OH}$). Tais grupos, quando ligados a grupos cromóforos alteram o comprimento de onda, a intensidade da absorção e conferem afinidade às fibras têxteis. [30,31].

Os corantes podem ser classificados quanto a fixação à fibra como corantes reativos, diretos, azoicos, ácidos, à cuba, de enxofre, catiônicos, dispersos, pré-metalizados, solventes e branqueadores [30].

Os corantes com grupo cromóforo azo representam cerca de 65% do mercado mundial de corantes utilizados pelas indústrias têxteis e seu nome originou-se do termo azote (nitrogênio em francês) pelo fato de sua estrutura possuir obrigatoriamente tais grupos [30]. Os azocorantes são classificados em relação a quantidade de grupos cromóforos presentes

em suas estruturas, desta forma, foram divididos em mono, di, tri e poliazos. Possuem hibridização sp^2 e normalmente estão ligados a anéis aromáticos [30,31].

Tabela 1. Principais grupos cromóforos e suas respectivas estruturas.

Classe	Cromóforo
Antraquinona	
Azo	$N=N$
Carbonilo	
Arilmetano	
Nitro	
Nitroso	$N=O$

Fonte: Santos et al., 2007 [32].

Esses compostos são obtidos pela reação de sais diazônio com aminas aromáticas, fenóis, enóis alifáticos ou naftóis [31]. O acoplamento desses grupos geralmente ocorre na posição *para* em relação ao grupo amino/hidroxil ou na posição *orto*, caso a posterior esteja ocupada [30,31]. A grande aplicação dos azocorantes é atribuída a sua estrutura molecular, a presença de cadeias orgânicas aromáticas e outros átomos que estabilizam a dupla ligação do grupo cromóforo. Essa forma estrutural possibilita estabilidade, intensidade da coloração, alta resistência à umidade, variações de temperatura, pH e fácil manuseio [30].

Existem milhares de corantes disponíveis para a indústria têxtil e para atender a um mercado cada vez mais exigente, a indústria tem investido no desenvolvimento de corantes com propriedades específicas para obter boa fixação da coloração nos tecidos, oferecendo alta resistência aos agentes desencadeadores do desbotamento [30, 33].

1.3.1 Aspecto toxicológico dos corantes têxteis

Estima-se que a produção mundial de corantes azo seja superior a 800 mil toneladas por ano, parte desses corantes são perdidos no processo de tingimento e lançados aos corpos hídricos como efluentes [34]. Tais resíduos quando presentes no ambiente aquático resultam em alteração dos parâmetros de análises, como a Demanda Química de Oxigênio (DQO), Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), Carbono Orgânico Total (COT), pH, cor e salinidade. A presença de pequenas quantidades de corante na água torna-a altamente colorida afetando a penetração da luz solar e consequentemente diminuindo a atividade fotossintética e a solubilidade dos gases. Esses corantes podem produzir partículas suspensas que penetram nas brânquias dos peixes e causam sufocamento, além disso, podem apresentar propriedades carcinogênicas e mutagênicas e diversos efeitos tóxicos aos seres humanos como disfunção do rim, fígado, cérebro e sistema nervoso central [30, 34].

Os seres humanos são expostos aos corantes principalmente por vias oral e dérmica, a primeira através da ingestão de alimentos, medicamentos ou água contaminada e a segunda, por meio do contato da pele com tecidos e cosméticos [30]. A avaliação das possíveis causas do câncer humano é realizada pelo Programa de Monografias da Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), através de uma avaliação de agentes biológicos, químicos e/ou físicos quanto à carcinogenicidade. Esses agentes são classificados em:

- grupo 1 - carcinogênicos para humanos,
- grupo 2A - provavelmente carcinogênicos para humanos),
- grupo 2B (possivelmente carcinogênicos para humanos) e
- grupo 3 (não classificável quanto à sua carcinogenicidade para seres humanos) [35].

Alguns azocorantes foram categorizados pela IARC, como o amarelo de metila e amarelo de anilina, ambos no grupo 2B. Subprodutos que podem ser formados através da oxidação de corantes azo, são classificados pela IARC como carcinogênicos (Grupo 1), como a benzidina e *o*-Toluidina [36].

Na literatura há diversos estudos do potencial nocivo de corantes azo. Tsuboy e colaboradores (2007) estudaram os efeitos mutagênicos, genotóxicos e citotóxicos do azo corante Disperso Azul 291 em células de mamíferos, identificando mutação genética com exposição a 400 mg L⁻¹ [37]. Fernandes e colaboradores (2015) avaliaram os efeitos tóxicos

do corante Disperso Vermelho 1 na reprodução de ratos, encontrando espermatozoides com morfologia anormal e redução da fertilidade [38]. Brüscheweiler e Merlot (2017) investigaram a mutagenicidade de 397 aminas aromáticas provenientes de 470 corantes têxteis, desta análise identificaram 40 aminas aromáticas mutagênicas [39].

Fernandes, Umbuzeiro e Salvadori (2019), estudaram a mutagenicidade e genotoxicidade do corante Disperso Blue 291 em camundongos Swiss machos após a administração oral de 50 mg kg⁻¹ de peso corporal dos animais. Não observaram dano primário ao DNA, mas foi possível constatar um efeito mutagênico em células da medula óssea dos camundongos [40].

Para o ser humano tais efeitos nocivos podem ser causados não apenas pelo agente em si, mas principalmente, pela formação de radicais livres e derivados de aminas que são obtidos a partir da biotransformação redutiva da ligação azo [11] ou de produtos gerados após a oxidação pelo CYP450 [41]. Segundo relata o Instituto Nacional do Câncer (INCA), há fortes evidências de que um dos agentes cancerígenos na ocorrência do câncer de bexiga são as aminas aromáticas, associando-as aos corantes azoicos [42].

As reações metabólicas em organismos vivos na presença do CYP450 mostram a incapacidade na distinção dos produtos formados durante os processos de oxidação [43].

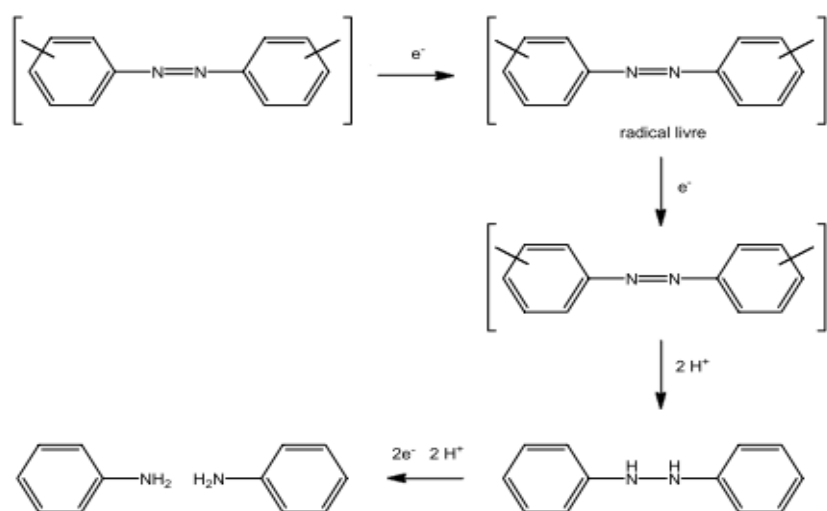
Esse fato gerou o interesse de pesquisadores em entender o funcionamento do metabolismo dos corantes azo. Foi observado pela primeira vez em 1911, que estes corantes poderiam ser metabolizados pela clivagem redutiva da ligação azo através da identificação do ácido sulfanílico na urina de cães alimentados pelo corante azo Orange I [44].

Estes compostos após a absorção são distribuídos pelo organismo e metabolizados podendo produzir produtos menos prejudiciais ou produtos bioativos, causando problemas ao organismo vivo. As principais rotas de biotransformação dos corantes são: oxidação, redução, hidrólise e conjugação, entretanto, em humanos a oxidação e a redução são possivelmente responsáveis pela presença de aminas tóxicas no organismo [31]. O P450 é o citocromo responsável pela clivagem redutiva das ligações azo desses corantes, sabendo disso fez-se necessário entender os mecanismos de biotransformação envolvendo essa classe de enzima.

No mecanismo de redução (Figura 7), esses corantes podem ser metabolizados em aminas aromáticas pelas azorredutases dos micro-organismos presentes no intestino. Estes mesmos micro-organismos podem produzir nitrorredutases caso os compostos azoicos

possuam o grupo nitro [43]. Neste processo há a transferência de dois elétrons com a formação de um radical livre como intermediário.

Figura 7. Mecanismo de redução de um azo corante.



Fonte: Hunger, 1994 [43]

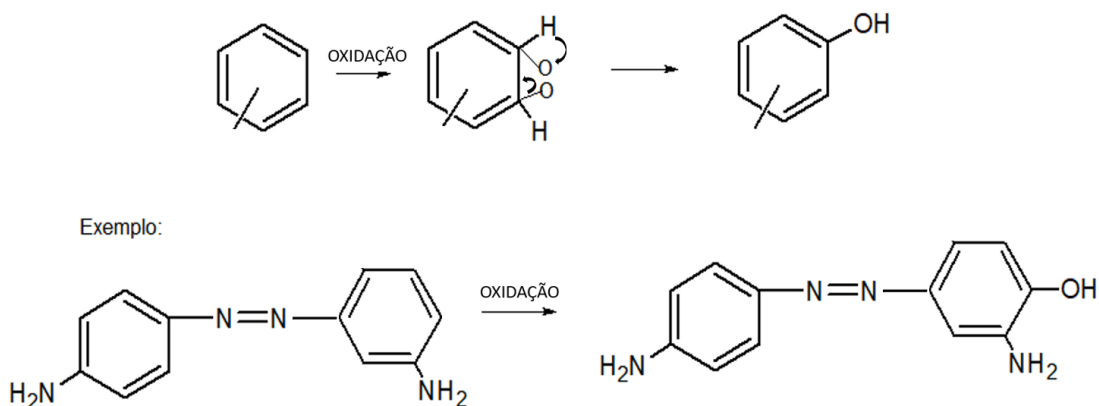
Essa reação ocorre no fígado e utiliza o sistema microsomal NADPH do *CYP450* como doador de elétrons. A capacidade de redução depende do sistema enzimático e da estrutura do corante, ocorrendo preferencialmente com corantes solúveis em água [43].

1.3.2 Processos oxidativos envolvendo corantes azo

Os processos oxidativos ocorrem preferencialmente em corantes com maior lipossolubilidade. O mecanismo geral consiste em uma cadeia transportadora de elétrons com a transferência de um elétron para o *CYP450*, o qual sofre redução e possibilita a entrada de oxigênio no substrato [44]. As principais vias de oxidação para corantes azo são C-hidroxilação, N-hidroxilação e desmetilação, tais mecanismos deixam a ligação azo intacta [43, 44].

A C-hidroxilação (Figura 8) ocorre via mecanismo de epoxidação, gerando um intermediário e em seguida um rearranjo para formar fenol [43,44].

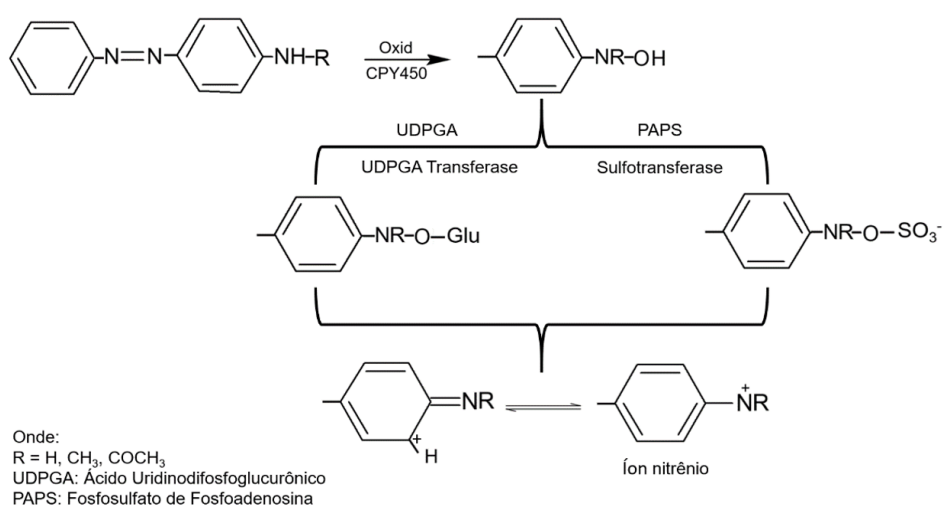
Figura 8. Mecanismo de C-hidroxilação no anel aromático.



Fonte: Adaptada de Hunger, 1994 [43]

A N-hidroxilação (Figura 9) ocorre em grupos amino primários, secundários ou acetilamino presentes no fígado. É reconhecida como o primeiro passo responsável pela ativação das aminas aromáticas aos seus intermediários reativos [43,45].

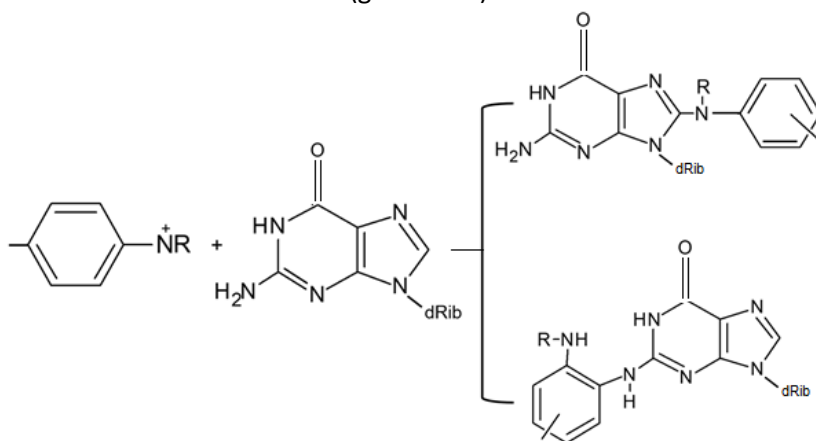
Figura 9. Mecanismo da N-hidroxilação dos corantes azo e formação do íon nitrênio.



Fonte: Adaptada de Hunger, 1994 [43].

Em seguida ocorre a esterificação com glucoronato ou sulfato. Os ésteres ativados podem levar à excreção das substâncias que se encontram solúveis em água, ou dividir o grupamento éster e formando o composto nitrênio -NH^+ , que pode ligar-se covalentemente a um grupo nucleofílico do DNA (Figura 10) [43, 44].

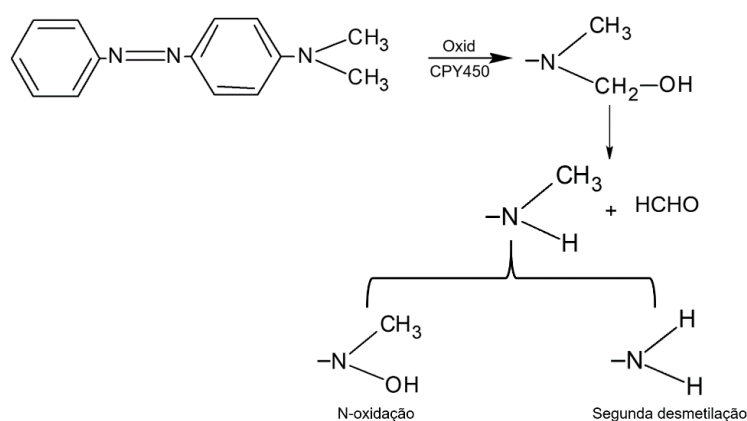
Figura 10. Reação do íon nitrênio com o DNA (guanosina).



Fonte: Adaptada de Hunger, 1994 [43]

A desmetilação (Figura 11), consiste na oxidação de grupos metil dos compostos dialquilamino. O N-hidroxiderivado pode ser desmetilado ou formar um composto nitrênio [43,44].

Figura 11. Mecanismo de desmetilação.



Fonte: Adaptada de Hunger, 1994 [43].

Alguns subprodutos gerados a partir da oxidação de corantes azo catalisadas pelo *CYP450* são considerados prejudiciais ao ser humano, como por exemplo, ácido 2-aminobenzóico, N, N-dimetil-p-fenilenodiamina [46], benzidina e o-Toluidina [47]. Sendo assim, destaca-se a importância do estudo dessa enzima e a compreensão de sua participação nas reações de oxidação de corantes. Nesse contexto, esse trabalho utilizou os complexos Fe(cyclam) e Catalisador de Jacobsen imobilizados em quitosana como modelos bio-inspirados do *CYP450*, para a oxidação de corantes têxteis.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Investigar a atividade catalítica dos catalisadores *cis*-[Fe(cyclam)Cl₂]Cl e catalisador de Jacobsen imobilizados em quitosana como modelos do citocromo P450 na oxidação de corantes têxteis utilizando como oxidante o peróxido de hidrogênio.

2.2 Específicos

- Imobilizar os catalisadores Fe-Cyclam e catalisador de Jacobsen em quitosana.
- Compreender a imobilização dos catalisadores Fe-Cyclam e catalisador de Jacobsen em quitosana por técnicas de FTIR, MEV/EDS, Espectrofotometria Molecular no UV-Vis, Análises térmicas e FAAS.
- Estudar a relação de catalisador, oxidante e substrato para obter a melhor condição de reação.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes Utilizados

Os reagentes utilizados como catalisadores, bem como os empregados nos preparos dos materiais imobilizados em quitosana estão sumarizados na Tabela 2.

Tabela 2. Reagentes utilizados e suas respectivas procedências e purezas.

Reagente	Marca	Grau de Pureza
Ácido Acético Glacial	Neon	99,0%
Azul de Metileno	Sigma Adrich	95,0%
Catalisador de Jacobsen	Acros Organics	98,0%
Diclorometano	Quemis	99,5%
Ferro-cyclan	*	-
Laranja Disperso 3	Sigma Adrich	90,0%
Laranja Reativo 16	Sigma Adrich	70,0%
Quitosana	Acros Organics	≥ 90,0%

* Fornecido pelo Prof. Dr. Fábio Gorzoni Doro da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM).

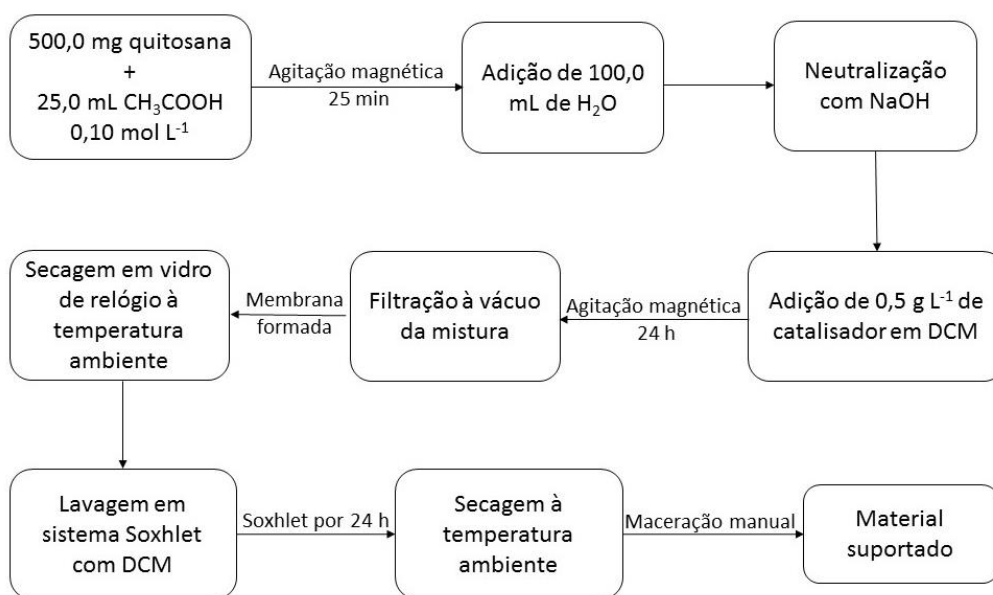
3.2 Síntese dos Materiais

3.2.1 Imobilização dos catalisadores Fe-cyclan e catalisador de Jacobsen em quitosana

A imobilização dos catalisadores Fe-cyclan e catalisador de Jacobsen em quitosana foi realizada utilizando a mesma metodologia [48]. Uma quantidade de 500,0 mg de quitosana seca foi solubilizada em 25,0 mL de ácido acético 0,10 mol L⁻¹, sob agitação magnética por 25 min. Em seguida, foram adicionados à mistura 100,0 mL de água destilada. O pH do meio foi neutralizado com a adição de uma solução de hidróxido de sódio 0,10 mol L⁻¹. Depois, foram adicionados, lentamente, 10,0 mL de diclorometano contendo 5,0 mg do catalisador. A

mistura permaneceu sob agitação magnética, à temperatura ambiente, por 24 horas. Ao final desse tempo, a suspensão foi filtrada em funil de Büchner, utilizando papel de filtro quantitativo com porosidade de 2,0 μm , e empregando um sistema à vácuo. O sólido obtido foi retirado do papel de filtro e colocado em um vidro de relógio. A secagem foi realizada à temperatura ambiente, a fim de se obter uma membrana. Após a secagem, a membrana foi lavada com diclorometano utilizando um sistema Soxhlet por 24 horas [48]. Após a secagem do material à temperatura ambiente, as membranas foram maceradas com o auxílio de um almofariz e pistilo. Os materiais suportados receberam as siglas FeCy-QT (Fe-cyclam suportado em quitosana), JBN-QT (catalisador de Jacobsen suportado em quitosana) e QT (quitosana). A Figura 12 apresenta o fluxograma da metodologia para a imobilização dos complexos. A mesma metodologia foi utilizada para a QT na ausência dos catalisadores.

Figura 12. Esquema de imobilização dos catalisadores Fe-cyclam e catalisador de Jacobsen em quitosana.



Fonte: próprio autor

3.3 Caracterização dos catalisadores Fe-cyclam e catalisador de Jacobsen

3.3.1 Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho

As caracterizações químicas dos complexos Fe-cyclam e catalisador de Jacobsen e da quitosana foram realizadas em espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) de marca Shimadzu, modelo IRPrestige-21. Foi utilizado o método de dispersão de amostras em brometo de potássio (KBr) para formação de pastilhas. Os espectros de absorção foram medidos na região de 4000 a 400 cm^{-1} , com resolução de 16 cm^{-1} . As amostras foram previamente secas em estufa a 80°C por 4h. As análises foram realizadas no Condomínio de Laboratórios de Química Multiusuários (CLQM) da Universidade Federal de Sergipe, *Campus* São Cristóvão.

3.3.2 Análise Termogravimétrica (TG), Termogravimetria Derivada (DTG) e Análise Termogravimétrica Diferencial (DTA)

As características térmicas das amostras foram analisadas pelas técnicas de análise termogravimétrica (TG), termogravimetria derivada (DTG) e análise termogravimétrica diferencial (DTA), utilizando o Analisador Térmico Simultâneo TGA/DTA de marca Netzsch STA 449 F1 Jupiter. As análises foram conduzidas aplicando uma taxa de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, com intervalo de temperatura de 25 $^{\circ}\text{C}$ a 600 $^{\circ}\text{C}$ e com um fluxo de gás nitrogênio de 100 mL min^{-1} . As análises foram realizadas no Laboratório de Análises Térmicas do Departamento de Ciência e Engenharia de Materiais (LMDCEM) da Universidade Federal de Sergipe, *Campus* São Cristóvão.

3.3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS)

A morfologia da quitosana, do Fe-cyclam e do catalisador de Jacobsen foram analisadas por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV). O microscópio

utilizado é da marca JEOL (modelo JCM-5700), com detector de elétrons secundários e operado com tensão de 5 kV e 15 kV. Para a obtenção das imagens, as amostras foram secas a 80°C por 4h, fixadas em um porta-amostras adequado sob fitas de carbono e metalizadas pela deposição de uma fina camada de Ag em um metalizador de marca Kurt J. Lesker 108. As imagens foram realizadas no Laboratório de Análises Microscópicas do Departamento de Ciência e Engenharia de Materiais (LMDCEM-UFS) e a metalização, realizada no Laboratório de Corrosão e Nanotecnologia (LCNT-UFS). Hifenado ao MEV foi utilizado um espectrômetro de energia dispersiva (EDS), para realização da análise qualitativa elementar da superfície.

3.3.4 Espectrofotometria Molecular UV-vis

A técnica de espectrofotometria de absorção molecular no ultravioleta/visível foi utilizada para caracterização dos corantes têxteis e para o monitoramento das reações de oxidação catalisadores imobilizados em quitosana. O espectrofotômetro UV-vis utilizado foi da marca Shimadzu e modelo UV-1800, operante na região de 200 a 800 nm. As análises foram realizadas no Laboratório de Biocatálise do Departamento de Química da Universidade Federal de Sergipe, *Campus Itabaiana*.

3.3.5 Espectrometria de Absorção Atômica por Chama (FAAS)

Os catalisadores foram quantificados diretamente por meio da espectrometria de absorção atômica por chama. O equipamento utilizado foi de marca Agilent Technologies 200 Series AA (modelo 240FS AA). Para a calibração foram utilizados padrões certificados dos metais Mn (0,6 mg L⁻¹) e Fe (0,6 e 30 mg L⁻¹), e uma solução de HNO₃ 3% (v/v) foi usado como branco. Foram utilizados os gases acetileno e ar comprimido, com vazões de 10 e 50 psi e fluxo de 13,50 e 2,00 L min⁻¹, respectivamente, para formação da chama. As análises foram realizadas no Instituto Tecnológico e de Pesquisas do Estado de Sergipe (ITPS).

(a) Preparo das amostras

Para a análise de FAAS foi necessária a realização da digestão das amostras e foi realizado com base na literatura [49; 50]. Foram adicionados 5,0 mL de HNO_3 concentrado a 30,0 mg dos catalisadores Fe-cyclam e catalisador de Jacobsen. Em seguida, as misturas foram aquecidas total vaporização. Os resíduos sólidos foram resfriados e adicionou-se 5,0 mL de HNO_3 concentrado. Após esse processo, a mistura foi filtrada com auxílio de funil e algodão e o volume foi aferido com água ultrapura em balão de 25,0 mL. Toda vidraria foi previamente lavada com solução de HNO_3 5% (v/v).

3.4 Estudo da oxidação dos corantes LR16, LD3 e AM catalisada pelos catalisadores suportados FeCy-QT e JBN-QT

Os estudos de oxidação foram realizados para os três corantes: aniônico, neutro e catiônico, utilizando os catalisadores suportados FeCy-QT e JBN-QT. Foram realizadas reações heterogêneas com a condição padrão de 1 : 5 : 2500 de catalisador : substrato : oxidante, utilizando $5,0 \times 10^{-8}$ mol de catalisador de Jacobsen e $4,6 \times 10^{-7}$ mol de Ferro-cyclam, sendo a água empregada como solvente para os corantes LR16 e AM e para o LD3, fez-se necessária a dissolução prévia em metanol. Essa condição padrão foi determinada após estudos com diferentes proporções de catalisador : substrato : oxidante, baseando-se na literatura e em trabalhos anteriores do grupo de pesquisa [51, 52, 53] e o oxidante utilizado foi o peróxido de hidrogênio. Todas as reações foram realizadas à temperatura ambiente em frascos com volume de 5,0 mL com tampa rosqueável. Com a finalidade de estudar a influência do pH no meio reacional, foram realizadas reações com variação de pH de (2,00; 4,00; 6,00; 8,00; 10,00 e 12,00). Os valores de pH das soluções reacionais foram ajustados com soluções concentradas de HCl e NaOH. As reações foram monitoradas por espectrofotometria molecular UV-Vis em intervalos fixos de tempo de 10 min, 1h, 12h e 24h. Foram realizadas reações controle sem a presença de agente oxidante e de catalisador. Os monitoramentos de pH foram realizados com o auxílio de um pHmetro de marca Kasvi e modelo K39-1014B. A calibração do aparelho foi realizada utilizando padrões de pH 4,00; 7,00 e 10,00 de marca Anidrol, com tolerância de erro de 0,05 no valor de pH

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Características morfológicas, estruturais e térmicas da quitosana e dos catalisadores Fe-cyclam e catalisador de Jacobsen

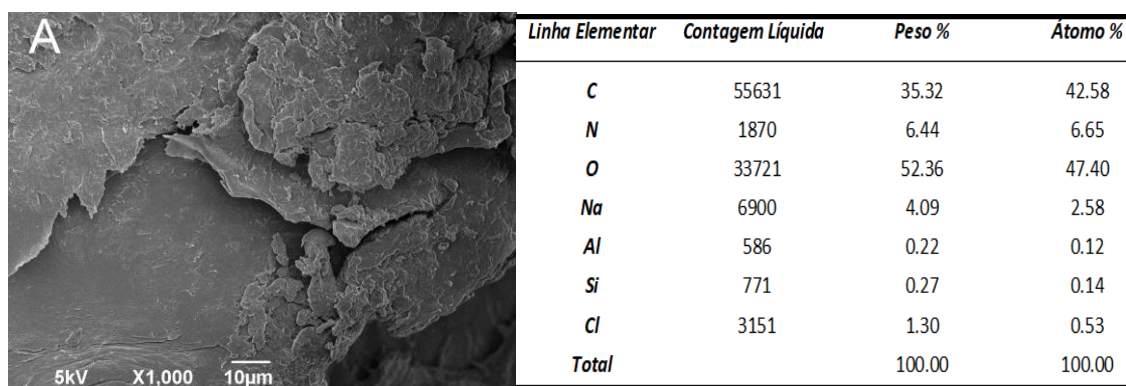
As características morfológicas, estruturais e térmicas dos materiais foram realizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de energia dispersiva (EDS), espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), análise termogravimétrica (TG), termogravimetria derivada (TG) e análise termogravimétrica diferencial (DTA).

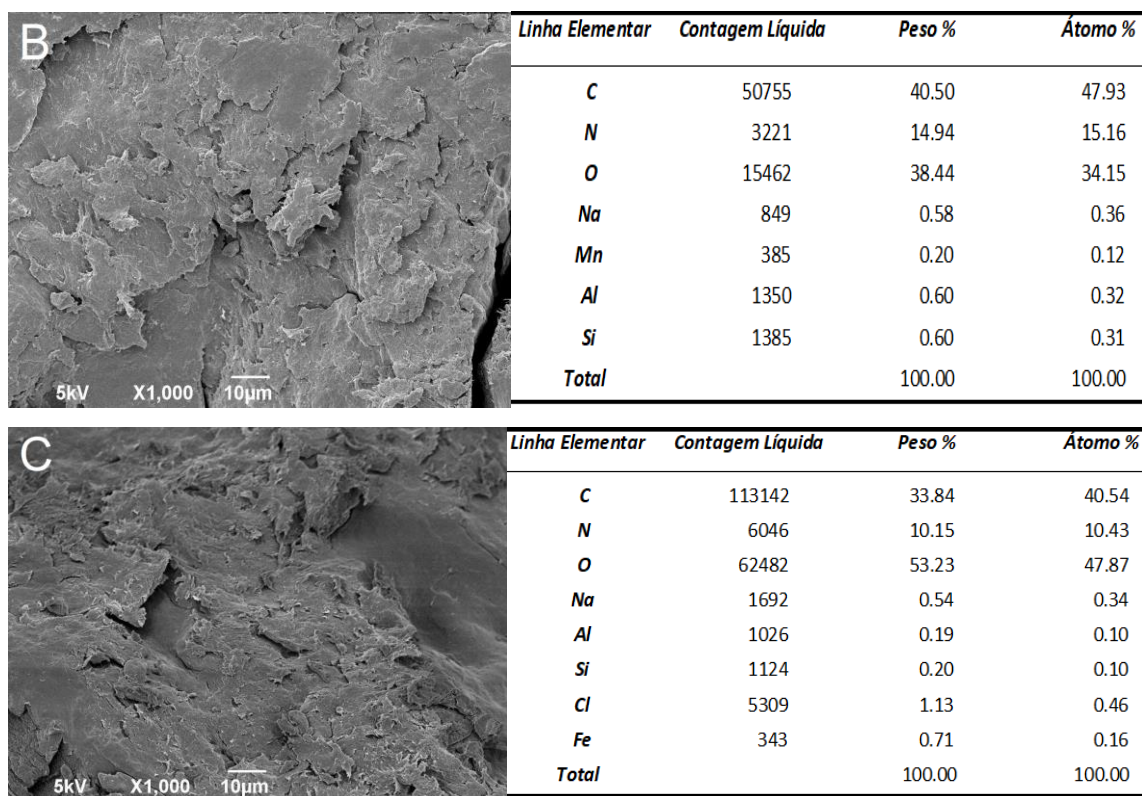
4.1.1 Microscopia eletrônica de varredura e Espectroscopia de energia dispersiva.

A morfologia da quitosana e dos catalisadores suportados foi analisada por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV). Esta técnica é capaz de produzir imagens de alta resolução da superfície das amostras. Hifenada ao MEV, foi realizada a espectroscopia de energia dispersiva (EDS) para a avaliação semiquantitativa da composição dos materiais (Figura 13).

Para determinar se houve alterações após a imobilização dos catalisadores, foram obtidas imagens por MEV da quitosana (QT) e dos catalisadores imobilizados em quitosana: catalisador de Jacobsen (JBN-QT) e ferro-cyclam (FeCy-QT). As imagens, com seus respectivos resultados de EDS, estão apresentados na Figura 13.

Figura 13 – Imagem MEV dos materiais com aumento de 1.000 vezes e resultados da análise dos elementos presentes na superfície dos materiais, analisadas por EDS. (A) QT; (B) JBN-QT; (C) FeCy-QT.





A imagem de MEV da superfície da QT (Figura 13A) exibe uma fase membranosa lisa, não porosa, categorizando a quitosana como densa. É possível observar que a morfologia dos catalisadores JBN-QT e FeCy-QT não apresentou alterações significativas nas superfícies após a imobilização, quando comparada à imagem da superfície da quitosana. Essa observação pode indicar que a inserção do Fe-cyclam e do catalisador de Jacobsen não alterou as propriedades morfológicas da quitosana, visto que em ambas imagens apresentam propriedades texturais similares. Koh (2012) [54] observou resultados semelhantes na morfologia da quitosana por MEV.

Concomitantemente à análise por MEV, foram realizadas as análises por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS) para determinar a composição dos materiais estudados e os possíveis contaminantes. A Figura 13 (A) apresenta os resultados da análise para a QT.

A análise semiquantitativa por meio do EDS revela que há um grande teor de átomos dos elementos O e C na amostra de QT, seguido do N. Estes elementos são os principais constituintes da quitosana. Também foram encontrados átomos de elementos que não fazem parte da estrutura desse biopolímero, que podem ser relacionados à impureza dos

reagentes e contaminação. A presença do Na e Cl pode ser atribuída a presença de resíduos do processo de desacetilação da quitina, que faz uso do hidróxido de sódio, ácido clorídrico, hipoclorito de sódio e peróxido de hidrogênio. Enquanto o Al e Si podem ter sido extraídos do local em que os crustáceos foram retirados (água salgada e areia) [55]. Para as amostras de JBN-QT, Figura 13 (B), e FeCy-QT, Figura 13 (C), pôde-se observar traços dos metais de interesse Mn e Fe, o que pode indicar que JBN e FeCy se encontram em pequenas proporções na superfície da quitosana.

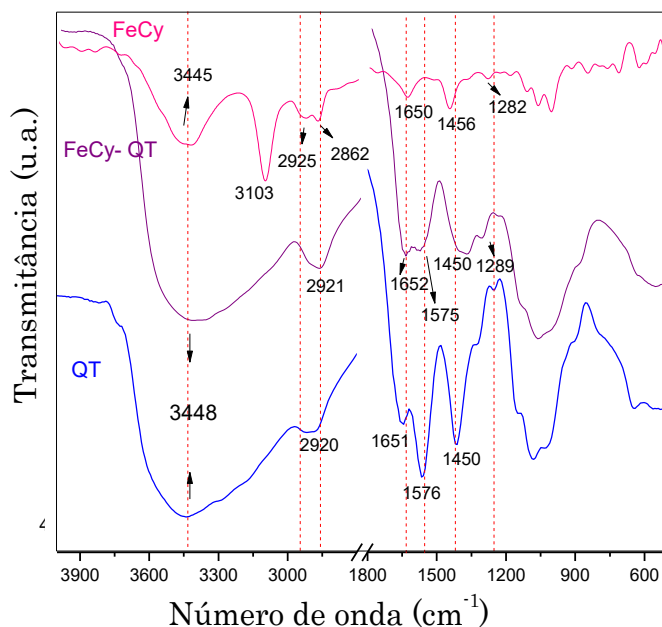
4.1.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier

A caracterização estrutural dos materiais foi realizada por estudos espectroscópicos na região do infravermelho com transformada de Fourier dos materiais QT, JBN-QT e FeCy-QT para investigar mudanças significativas na estrutura da quitosana após a imobilização dos catalisadores.

O espectro obtido para QT (Figura 14) apresenta uma banda larga na região de 3600 a 3000 cm^{-1} , correspondente ao estiramento axial do OH e deformação axial NH do grupo amina, na região de 3360 cm^{-1} , as quais costumam se apresentar sobrepostas, resultando no alargamento da banda [56, 57].

A banda em 2920 cm^{-1} é referente às vibrações assimétricas das ligações C-H [58, 59]. Em 1650 e 1570 cm^{-1} encontram-se bandas atribuídas às vibrações de N-H. As deformações relacionadas aos grupos amida são encontradas na região de 1420 cm^{-1} . As bandas que aparecem de 890-1156 cm^{-1} são características das estruturas polissacarídicas da quitosana [60, 61].

Figura 14 – Espectros Vibracionais na região do infravermelho para FeCy, FeCy- QT e QT, dispersos em pastilhas de KBr.



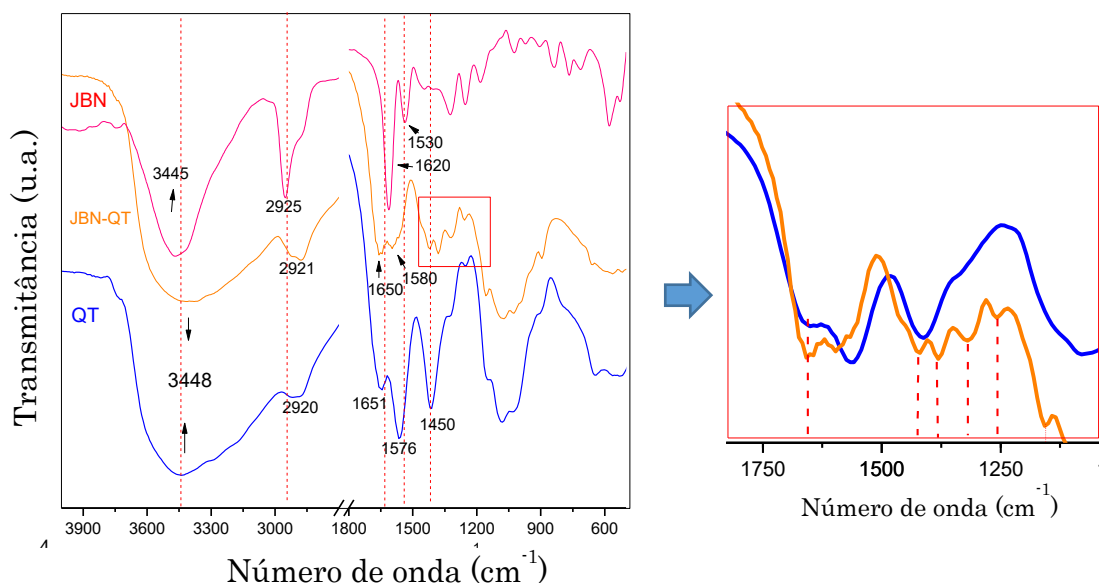
O espectro vibracional na região do infravermelho do complexo Fe(cyclam) (Figura 20) apresenta bandas características do ligante macrocíclico, como as que aparecem na região de 3446 e 3103 cm^{-1} que são atribuídas aos estiramentos N-H. Outras bandas identificadas se encontram em 2925 e 2862 cm^{-1} referentes aos estiramentos CH_2 . Pode-se observar bandas na região de 1456 e 1282 cm^{-1} , referentes às vibrações características das ligações CH_2 e C-N, respectivamente [62].

Ao comparar os espectros da QT e FeCy com o espectro do material suportado, FeCy-QT (Figura 14), é possível observar alterações que são evidências da presença do complexo ferro cyclam na matriz da quitosana. Na região de 2921 cm^{-1} há um aumento da intensidade da banda; visto que há bandas da QT e do FeCy nessa região e com a intercalação, possivelmente, ocasionou o aumento da intensidade dessa banda. No espectro do FeCy-QT, há o aparecimento de bandas nas regiões 1454 e 1289 cm^{-1} que são bandas características do FeCy, como mencionado acima. Tais alterações evidenciam que houve a imobilização do complexo à quitosana.

Na Figura 15, estão apresentados os espectros vibracionais de infravermelho do JBN e JBN-QT. Assim como o FeCy, o JBN e a QT possuem uma banda característica na região de

2920 cm^{-1} . No espectro do JBN-QT, observa-se um aumento de intensidade da banda nessa região, evidenciando a presença do JBN na matriz da quitosana.

Figura 15 – Espectros Vibracionais na região do infravermelho na região de $4000 - 1000\text{ cm}^{-1}$ para JBN, JBN-QT e QT, dispersos em KBr. Em destaque, QT e JBN-QT na região na região de $2000 - 1000\text{ cm}^{-1}$.



Na Figura 15 verifica-se a existência de uma banda no complexo JBN, de absorção na região de 1620 cm^{-1} que é atribuída às vibrações C=N do catalisador de Jacobsen [57] e no JBN-QT há uma banda na mesma região. No espectro de JBN- QT observa-se na região de $1400 - 1100\text{ cm}^{-1}$ o aparecimento de bandas vibracionais características do catalisador de Jacobsen que não aparecem no espectro da quitosana. Tais observações evidenciam a presença do complexo salen na matriz da quitosana.

4.1.3 Análise Termogravimétrica

Na Figura 16 é possível observar para a QT que a primeira perda de massa ocorre entre 25 e 180°C correspondente a perda de moléculas de água ligadas ao material. A análise térmica diferencial apresenta eventos térmicos concordantes com a curva TG apresentando em 109°C um pico endotérmico, no qual houve a maior perda dessa região. Dentre o intervalo de 230°C até 400°C há um pico exotérmico, no qual ocorre a segunda

perda de massa que pode ser atribuída à despolimerização e decomposição pirólica da quitosana, podendo produzir da transformação da estrutura polissacarídea em água, dióxido de carbono, metano e amônia [63]. A terceira perda é observada um evento exotérmico a 523°C que pode estar relacionada à decomposição da quitosana, semelhante aos estudos descritos por Luz e colaboradores (2019) [64]. Foram observados elementos inorgânicos presentes no material na análise de EDS, os quais também podem estar relacionados ao pico decorrente da terceira perda de massa.

Figura 16 – Análise TG-DTG-DTA utilizando um gradiente de temperatura entre 25 até 600°C, com velocidade de aquecimento de 10°C min⁻¹, sob atmosfera de N₂, da (a) QT; (b) JBN-QT; (c) FeCy-QT.

Para JBN-QT e FeCy-QT, foram observadas duas perdas de massa, a primeira perda tanto para a quitosana quanto para os materiais suportados ocorre aproximadamente entre 25-150°C referentes às moléculas de água no material. Os eventos apresentados pela análise DTA ocorrem em 85°C para o catalisador de Jacobsen e 86°C para o FeCy, suas perdas

máximas nessa região foram menores que a da quitosana devido a uma menor quantidade de moléculas de água ligadas aos complexos. A segunda perda ocorre em 280 e 281°C, referente à decomposição da quitosana. A literatura apresenta resultados de TG para o JBN suportado em quitosana, em que houve três perdas de massa, a terceira ocorre próximo a 500 °C [48]. Pode-se deduzir que o não aparecimento de um terceiro pico indica que os grupos orgânicos foram decompostos em temperaturas mais baixas, ou ainda, que ocorre acima de 600 °C.

Diante dos resultados das caracterizações morfológica, estrutural e térmica, foi possível obter evidências da imobilização dos complexos JBN e FeCy em quitosana, além de confirmar que, após a imobilização, não houve mudanças significativas na estrutura da quitosana.

Além de caracterizados, esses materiais foram quantificados através da espectrometria de absorção atômica por chamas (FAAS), para então ser utilizado como catalisador nas reações de oxidação de corantes têxteis.

4.2 Análise quantitativa

Para quantificar os catalisadores presentes na quitosana, utilizou-se a técnica de espectrometria de absorção atômica por chamas (FAAS). Para a quantificação foram realizadas as curvas analíticas apresentadas na Figura 17. Essa relação matemática é expressa pela equação da reta $y = ax + b$ em que a abscissa (x) representa a concentração do corante e a ordenada (y) sua absorbância. O coeficiente angular (a) e linear (b) representa a inclinação da curva analítica e a interseção com o eixo y (quando $x=0$), respectivamente. O coeficiente de correlação (r) permite estimar a qualidade da curva, através da regressão linear; seu valor não deve ser menor que 0,99 [65].

É possível observar que ambas as curvas analíticas (Figuras 17A e B) apresentaram-se lineares e com valores de coeficientes de correlação (r) acima de 0,99. Esses valores, muito próximo ao unitário, indicam uma boa aproximação dos pontos à equação linear, confirmando a linearidade do método e confiabilidade dos resultados.

A quantidade dos catalisadores JBN e FeCy suportados por grama de QT foi determinado utilizando a técnica de FAAS, os valores encontrados foram de $9,0 \times 10^{-6}$ mol/g

(desvio padrão de $5,8 \times 10^{-7}$) e $1,9 \times 10^{-5}$ mol/g (desvio padrão de $2,5 \times 10^{-7}$) para o catalisador JBN e FeCy, respectivamente. As análises foram realizadas em triplicata.

Figura 17 – Curva analítica obtida para determinação dos metais manganês e ferro. (A) solução de manganês nas concentrações de 0,00 a $2,50 \text{ mg L}^{-1}$ e (B) solução de ferro nas concentrações de 0,00 a $5,00 \text{ mg L}^{-1}$.

Em seguida os materiais JBN-QT e FeCy-QT foram utilizados nas reações de oxidação dos corantes LR16, LD3 e AM.

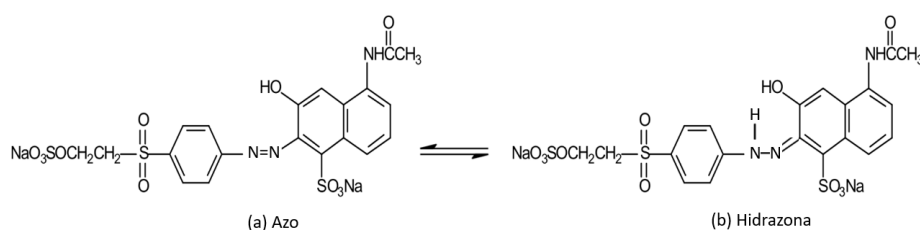
4.3 Estudo por espectrofotometria molecular UV-Vis dos corantes LR16, LD3 e AM

O monitoramento de processos de oxidação e/ou redução de corantes baseia-se principalmente em investigações utilizando a espectrofotometria molecular UV-Vis, devido

as bandas de absorção dos corantes nesta região [34]. Assim, foi necessário a caracterização inicial dos corantes LR16 (corante aniônico), LD3 (corante neutro) e AM (corante catiônico) por espectrofotometria molecular UV-Vis.

O corante LR16 (Figura 18) pertence a classe dos corantes reativos e possui duas formas isoméricas: azo e hidrazona, em sua estrutura há a presença do grupo eletrofílico sulfatoetilsulfonila, além do grupo azo e hidrazona como cromóforo. O caráter aniônico é devido aos grupos sulfonados presentes e a solubilidade em água é de 120 g L⁻¹ [66].

Figura 18 – Representação das formas isoméricas do corante LR16. (a) forma azo, (b) forma hidrazona.



Fonte: adaptado de Belskaya, et al., 2013. [67]

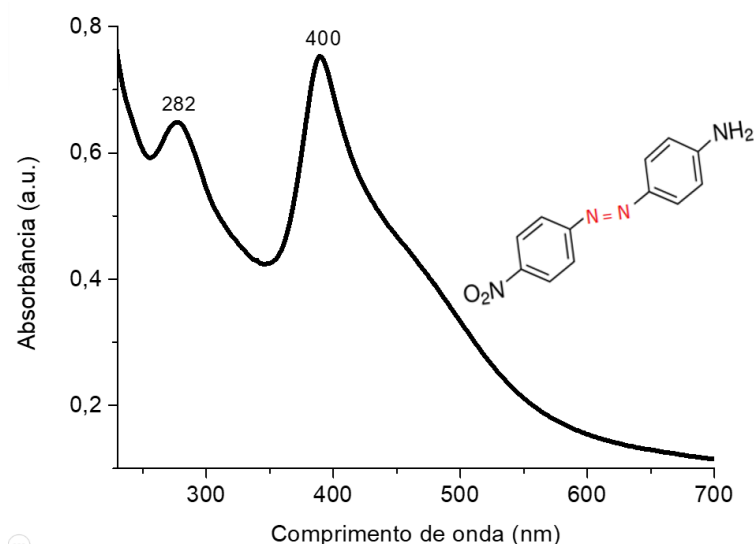
O espectro UV-Vis do corante LR16 (Figura 19) apresenta três bandas na região do ultravioleta e uma banda na região do visível.

Figura 19 – Espectro de absorção molecular no UV-Vis de uma solução de $3,17 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹ do corante LR16 em H₂O.

As bandas no ultravioleta são atribuídas às (i) transições dos orbitais $\pi \rightarrow \pi^*$ referente ao anel benzênico em 254 nm, (ii) presença do grupo naftaleno em 295 nm e (iii) às transições dos orbitais $n \rightarrow \pi^*$ do isômero hidrazona em 386 nm. Na região do visível no comprimento de onda de 493 nm ocorre as transições $\pi \rightarrow \pi^*$ da forma azo [68].

O corante neutro LD3 (Figura 20) possui em sua estrutura o grupo nitro, o grupo amino (doador de elétrons) e o grupo cromóforo azo. Este corante apresenta baixa solubilidade em água e necessita de agentes dispersantes para facilitar o contato entre o corante e o substrato [30].

Figura 20 – Estrutura química e espectro de absorção molecular no UV-Vis de uma solução de $2,46 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante LD3 em MeOH/H₂O (1:99, v:v).

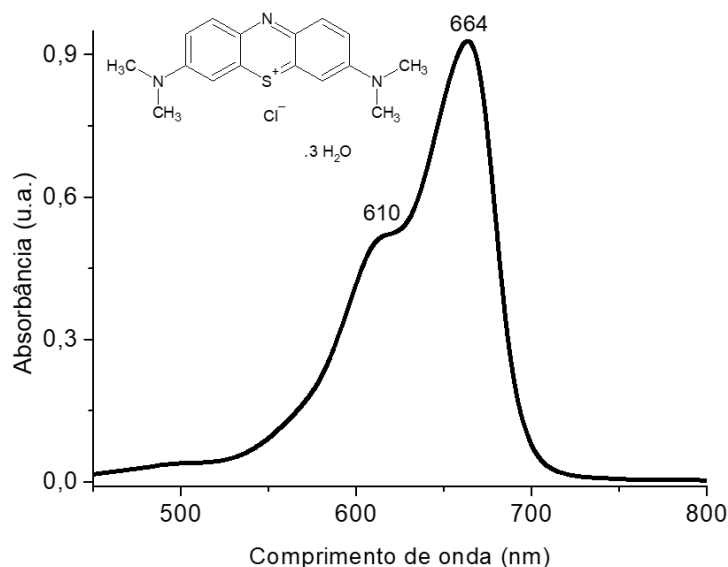


Na análise do espectro UV-Vis do corante LD3 (Figura 20) observa-se uma banda na região do ultravioleta com comprimento de onda de 282 nm, atribuída às transições $\pi \rightarrow \pi^*$ do anel aromático. A segunda banda em 400 nm, na região do visível, é atribuída às transições $n \rightarrow \pi^*$ do grupo azo do corante [69].

O corante catiônico AM com relação ao grupo cromóforo é classificado como uma fenotiazina, devido ao anel central contendo átomos de nitrogênio e enxofre, além de dois anéis aromáticos em que cada está ligado ao grupo dimetilamina. Essa estrutura lhe confere resistência a processos de biodegradação, assim como os demais compostos fenólicos

substituídos [70]. Este corante está disponível comercialmente em diversas formas, sendo que a tri-hidratada é a mais comum (Figura 21).

Figura 21 – Fórmula estrutural do corante AM em sua forma tri-hidratada e o espectro de absorção molecular no UV-Vis de uma solução de $4,0 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ do corante AM em H_2O .



Este corante catiônico em solução pode se unir formando dímeros moleculares, ou mesmo trímeros e agregados maiores, mesmo em soluções de concentração da ordem de $10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. Os espectros de absorção de luz visível são diferentes para as moléculas que se encontram nas formas agregadas daqueles vistos para os monômeros do corante, uma vez que a agregação altera significativamente os níveis de energia para as transições eletrônicas das mesmas [71].

Na solução do AM, com concentração da ordem de $10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$, é possível observar uma banda de absorção máxima em 664 nm correspondente aos monômeros AMH^+ e uma banda em torno de 610 nm, referente a uma transição com acoplamento vibracional, característico deste corante (Figura 21) [72].

Pode ocorrer em concentrações mais altas, a diminuição da banda dos monômeros e o aparecimento de outra banda com máximo em 605 nm, atribuída aos dímeros do AM. Já para concentrações ainda maiores é possível observar outra banda por volta de 575 nm, referente aos trímeros e agregados maiores [72]. Em meio aquoso altamente ácido o AM

exibe também uma banda com máximo em 765 nm, que é atribuída aos monômeros protonados do corante [72].

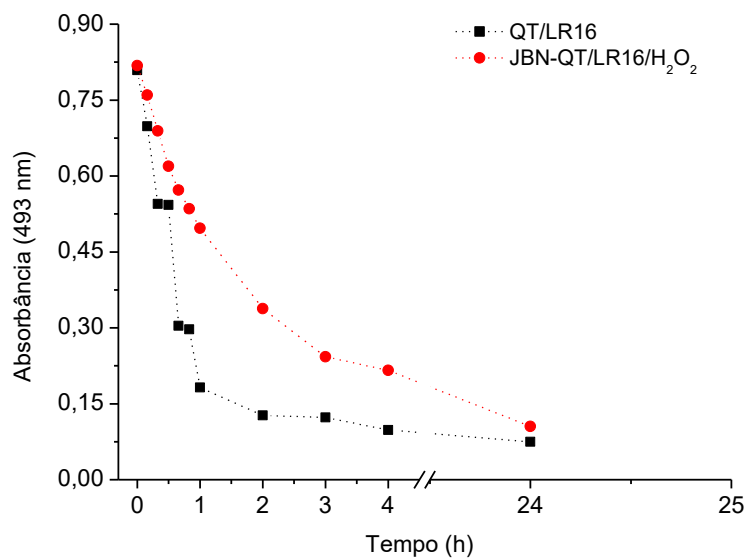
4.4 Estudo por espectrofotometria molecular UV-Vis da oxidação dos corantes LR16, LD3 e AM catalisada pelos complexos JBN-QT e FeCy-QT

Inicialmente os estudos de oxidação dos corantes LR16, LD3 e AM foram desenvolvidos na razão molar complexo : corante : oxidante de 1 : 5 : 2500. A escolha de água e/ou metanol como solventes das reações foi baseada na solubilidade dos corantes. A escolha do H_2O_2 como oxidante se deve aos bons resultados descritos na literatura quando comparado a outros oxidantes, além disso é um metabólito natural em muitos organismos o qual, quando decomposto, resulta em oxigênio molecular e água [73].

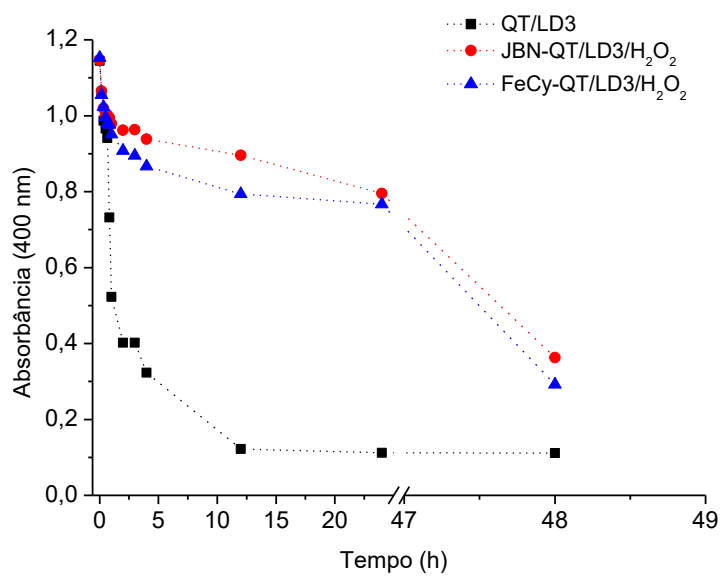
Processos oxidativos envolvendo corantes são baseados principalmente em modificações no grupo cromóforo, por exemplo, clivagem das ligações presentes no grupo cromóforo ou hidroxilação da molécula ou parte dela. Assim, o acompanhamento das reações de oxidação dos corantes foi monitorado por espectrofotometria molecular UV-Vis, pela diminuição da banda do grupo cromóforo na região do visível em 493, 400 e 664 nm para os corantes LR16, LD3 e AM, respectivamente. Reações controle na ausência do oxidante e catalisador foram realizadas para os três corantes, como pode ser observado nas Figuras 22 A, B e C.

Observa-se que nas Figuras 22A e 22B na presença apenas da quitosana ocorre aproximadamente 90% da diminuição da absorção com apenas 4h de agitação, indicando que os corantes LR16 e LD3 são adsorvidos pela quitosana. Essa adsorção química ocorre a partir do rearranjo de elétrons, resultando na formação de ligação química entre o corante e as valências livres dos átomos da superfície da quitosana. A quitosana, possui grupos amino que são altamente reativos devido aos pares eletrônicos livres nos átomos de nitrogênio, contudo, em solução aquosa, são facilmente protonados, facilitando a atração eletrostática [73].

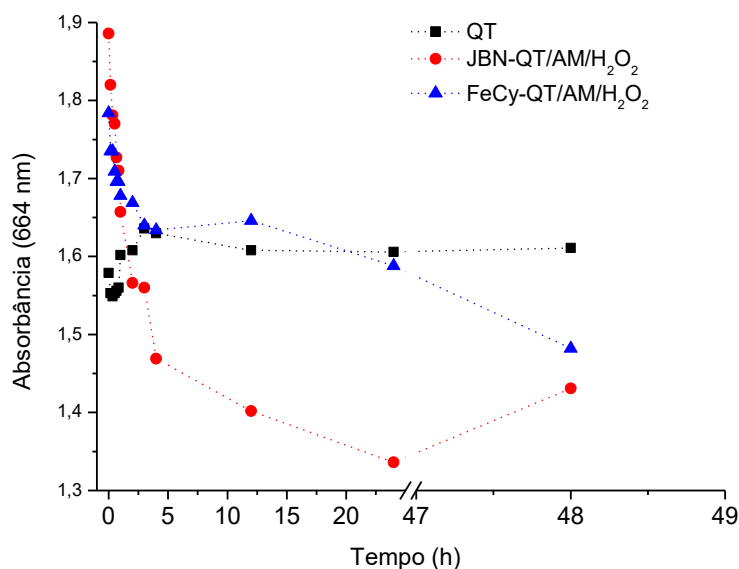
Figura 22 – Reações controle para os sistemas: (a) QT/LR6 e JBN-QT/LR16/H₂O₂; (b) QT/LD3, JBN-QT/LD3/H₂O₂ e FeCy-QT/LD3/H₂O₂; (c) QT/AM, JBN-QT/AM/H₂O₂ e FeCy-QT/AM/H₂O₂.



(a)



(b)



(c)

As moléculas do corante LR-16 em solução aquosa são carregadas negativamente (SO_3^-) e interagem fortemente com as cargas positivas da quitosana (NH_3^+) [66]. Essa alta interação e consequentemente a adsorção do corante à quitosana, impossibilitou o estudo da influência dos catalisadores JBN e FeCy suportados na quitosana nestas reações. Observa-se também que nas reações em que há a ausência dos catalisadores, a adsorção ocorre de forma mais rápida, isso pode ser explicado pela existência de espaços vazios na cadeia polimérica da quitosana, que posteriormente foram ocupados pelos complexos, resultando em uma barreira inicial para a adsorção dos corantes.

Nas reações com o corante catiônico AM, apresentadas na Figura 22C, podemos observar que na presença apenas de QT não há diminuição da absorbância, indicando assim que o corante não é adsorvido pela quitosana, o que está relacionado ao caráter catiônico da quitosana e corante, resultando em repulsões eletrostáticas. Na presença dos catalisadores JBN-QT e FeCy-QT, entretanto, observa-se uma diminuição na absorbância de 24% e 11%, respectivamente. A presença dos catalisadores influencia na oxidação do AM, contudo, esses valores foram relativamente baixos e podem ser explicados pelo caráter das espécies formadas no meio reacional. Pois em reações oxidativas, utilizando peróxidos para a ativação do oxigênio, são propostas possibilidades de mecanismos: a clivagem homolítica ou heterolítica da ligação O–O. A primeira resulta na formação de radicais $\text{RO}\cdot$ e

intermediários pouco reativos e a segunda, resulta em intermediários ativos. Ou ainda, a dismutação do H_2O_2 que ocorre quando uma segunda molécula de peróxido reage com o complexo metálico produzindo oxigênio e água, nesse caso, o H_2O_2 é consumido e não contribui para a oxidação do substrato [74, 75]. Diante desses resultados em que a condição estudada não promoveu uma oxidação considerável do corante e sabendo que o pH do meio pode influenciar diretamente na oxidação do AM [76], foram realizadas reações em diferentes valores de pH (2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 e 12,0), utilizando soluções de NaOH e HCl para o ajuste de pH. Essas reações estão apresentadas nas Figuras 23 e 24 com os catalisadores JBN-QT e FeCy-QT, respectivamente.

Figura 23 – Reações de oxidação do sistema JBN-QT/AM/ H_2O_2 nos valores de pH 2, 4, 6, 8, 10 e 12.

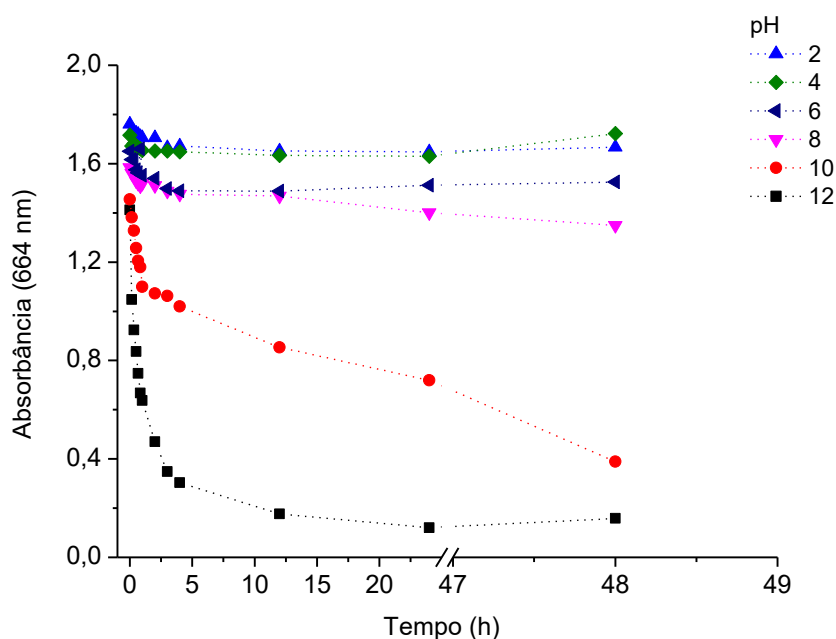
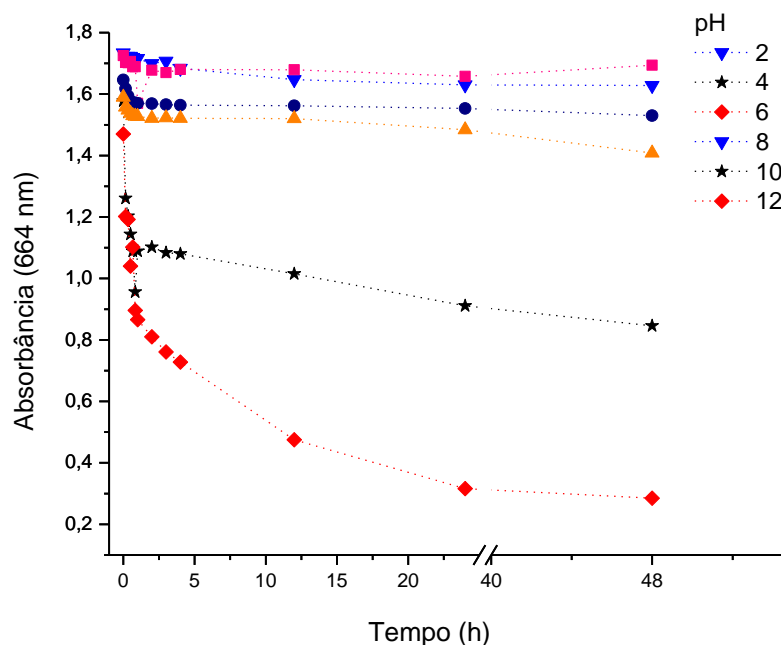


Figura 24 – Reações de oxidação do sistema FeCy-QT/AM/H₂O₂ nos valores de pH 2, 4, 6, 8, 10 e 12.



Nas reações de oxidação catalisadas pelos complexos imobilizados JBN-QT e FeCy-QT, observou-se que em pH de 2 não há variação da absorbância. Nos valores de pH de 4 a 8 não houve alterações significativas na absorbância durante as 48 h de reação. O que pode ser explicado pelo caráter catiônico do corante AM e da quitosana, em que à medida que pH diminui, há um aumento de cargas positivas no meio reacional, resultando em repulsões eletrostáticas [66], dificultando a aproximação do sítio catalítico com o substrato, consequentemente, não há a atuação dos complexos JBN-QT e FeCy-QT para promover a oxidação.

Em pH 10,0 observa-se uma diminuição da absorbância de 60% em presença do JBN-QT e 42% para o FeCy-QT. Em pH 12,0, uma diminuição da absorbância de 80% e 88% para o JBN-QT e FeCy-QT, respectivamente. Observa-se que à medida que aumenta o pH, há uma diminuição das cargas positivas disponíveis e por consequência, uma diminuição das repulsões entre as cargas positivas do suporte e do corante, possibilitando a aproximação do substrato ao sítio catalítico e resultando na ação de intermediários de alta valência. Como discutido anteriormente, em reações que utilizam peróxidos como oxidante, há a possibilidade da clivagem homolítica ou heterolítica da ligação O–O. Assim, em complexos que possuem o Mn como átomo central, como o JBN-QT, através da clivagem heterolítica da ligação O–O, é formada a espécie oxo $Mn^V=O$, responsável pela transferência do átomo de

oxigênio para o substrato [75]. De forma semelhante ocorre com o FeCy-QT, em que a partir da clivagem heterolítica da ligação O–O, pode formar as espécies de alta valência oxo $\text{Fe}^{\text{IV}}=\text{O}$ e oxo $\text{Fe}^{\text{V}}=\text{O}$, também responsáveis pela transferência do átomo de oxigênio. Assim, observa-se que ambos catalisadores apresentam atividade catalítica e atuam diretamente na oxidação desse corante.

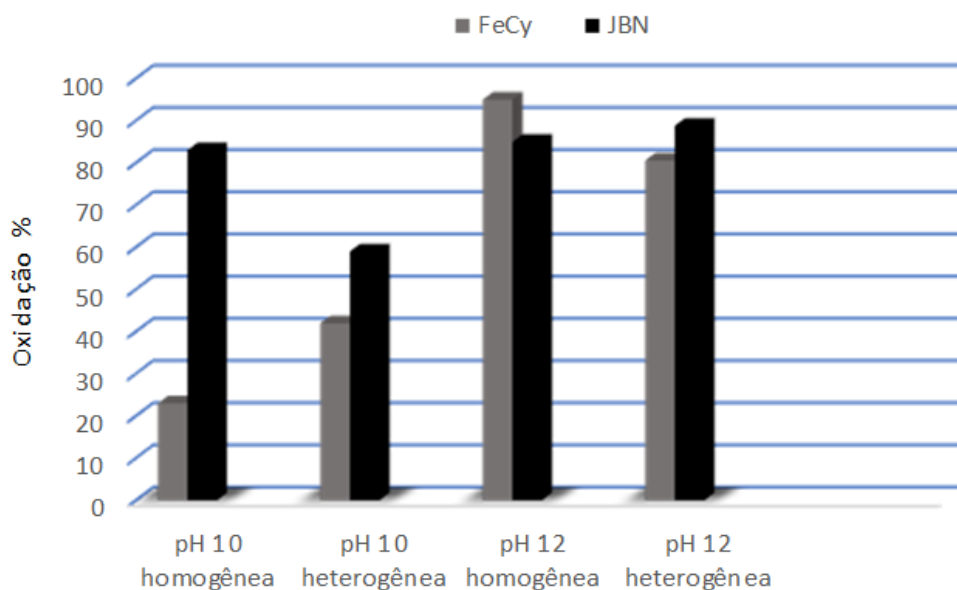
Visto que as reações de oxidação do corante AM, catalisada por JBN-QT e FeCy-QT, apresentaram resultados efetivos em meio básico (pH 10,0 e 12,0), foram realizadas reações em meio homogêneo, ou seja, utilizando apenas os catalisadores JBN e FeCy, nesses valores de pH.

Estudo da oxidação do AM catalisada por JBN e FeCy em meio homogêneo

Reações em meio heterogêneo oferece vantagens, tais como a facilidade de purificação do produto, reciclagem do potencial catalisador, aumento da estabilidade da espécie catalítica e a capacidade de imitar o local ativo da enzima, ao passo que as reações em meio homogêneo, frequentemente fornece os melhores resultados em termos de rendimento e formação de produtos. Dessa forma, torna-se muito relevante as pesquisas utilizando apenas os catalisadores JBN e FeCy.

De acordo com os resultados obtidos em pH 10 e 12, foram realizadas reações homogêneas com soluções dos catalisadores, com a mesma proporção molar das reações heterogêneas (1 : 5 : 2500), na presença do H_2O_2 . Na Figura 25, apresenta-se o estudo comparativo das porcentagens de oxidação em meio homogêneo e heterogêneo.

Figura 25 – Porcentagem da oxidação do corante AM catalisada por JBN e FeCy em meio homogêneo e heterogêneo, em pH 10 e 12.



Fonte: o próprio autor

Nas reações homogêneas foi possível observar que o JBN apresentou oxidação de aproximadamente 80%, em ambos valores de pH. A utilização do H_2O_2 nestas reações, possibilita a formação da espécie $oxo\ Mn^V=O$, eficiente e seletiva em transferir o átomo de oxigênio para o substrato, resultante da clivagem heterolítica da ligação $O-O$. O FeCy, apresentou uma baixa oxidação em pH 10 (20%), sugerindo que houve uma clivagem homolítica, resultando na formação de intermediários pouco reativos, e a inativação do catalisador, muito comum em catálise homogênea [6, 74]. Contudo, em pH 12, houve uma oxidação de 95% do corante, que pode ser resultado da formação das espécies reativas $oxo\ Fe^{IV}=O$ e $oxo\ Fe^V=O$ responsáveis pela transferência do átomo de oxigênio.

Ao comparar os valores obtidos nas reações de oxidação do corante AM, em meio homogêneo e meio heterogêneo, de forma geral, há a promoção da oxidação do corante em ambos os meios, não apresentando diferenças significativas, com exceção do FeCy, que em pH 10, quando imobilizado em quitosana, apresentou o dobro da oxidação (40%).

Apesar desses resultados, a literatura dispõe de diversos trabalhos em que os valores de oxidação em meio heterogêneo superam os valores em meio homogêneo, pois a presença do suporte confere aos catalisadores uma maior estabilidade, diminui a inativação do catalisador, aumenta a eficiência e a resistência à possíveis degradações [6, 9, 14, 19].

Nesse estudo, porém, não houve essa diferença entre os resultados de oxidação do corante AM, contudo, prevalece a vantagem da possibilidade de reuso dos catalisadores em reações posteriores.

5 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos das características morfológicas, estruturais e térmicas dos catalisadores biomiméticos, FeCy e JBN, foi possível concluir que após a imobilização não houve mudanças significativas da matriz quitosana. As imagens de MEV de FeCy-QT e JBN-QT apresentaram um perfil semelhante às imagens obtidas antes da imobilização. A presença de bandas vibracionais características dos complexos ferro(cyclam) e Catalisador de Jacobsen nos espectros de FeCy-QT e JBN-QT, evidencia a ancoragem ao suporte orgânico. O estudo da estabilidade térmica e do mecanismo de decomposição apresentou que as primeiras perdas são decorrentes da desidratação de moléculas de água ligadas à superfície dos materiais e que esses compostos são considerados estáveis.

A partir dos resultados da quantificação por FAAS dos materiais suportados $9,0 \times 10^{-6}$ mol de JBN, e $1,9 \times 10^{-5}$ mol de FeCy, por grama de quitosana, pôde-se concluir que houve a agregação dos catalisadores à matriz da quitosana

Devido à adsorção dos corantes LR16 e LD3 à quitosana, não foi possível estudar a influência dos catalisadores biomiméticos, imobilizados em quitosana, na oxidação dos corantes. O estudo foi possível com o corante catiônico AM, que não apresentou adsorção do corante à matriz da quitosana. O pH do meio mostrou-se influenciar significativamente as reações de oxidação desse corante. De forma que, observou-se maior resultado de oxidação, nos valores de pH 10,0 e 12,0. Obteve, entretanto, uma maior oxidação em meio altamente básico (pH 12,0) com porcentagens de 88% com o catalisador JBN-QT e 80% utilizando o catalisador FeCy-QT. Esses resultados representam que esses catalisadores, imobilizados em quitosana, podem ser utilizados como modelos biomiméticos do citocromo p450.

REFERÊNCIAS

- [1] Chapman, C.M.; Jones, G.B. Biomimetic Oxidations of Xenobiotics by Metalloporphyrin Catalysts: Design Considerations. *Current Catalysis*, **2015**, *4*, 166-213.
- [2] Rodwell, V.W.; Bender, D.A.; Botham, K.M.; Kennelly, P.J.; Weil, P.A. Bioquímica Ilustrada de Harper. 30ed; AMGH Editora: Porto Alegre, 2017. Cap 47, p. 583-588.
- [3] Fernández, A.G. Aspectos Fundamentales dell Citocromo P450. Serie Ciencias Biomédicas. Colección Docencia Universitaria. Fundación Tejerina. Ed. ADEMA; Madrid, 2011.
- [4] Nodzevska, A.; Wadolowska, A.; Watkinson, M. Recent advances in the catalytic oxidation of alkene and alkane substrates using immobilized manganese complexes with nitrogen containing ligands. *Coordination Chemistry Reviews*, **2019**, *382*, 181–216.
- [5] Bernadou, J.; Meunier, B. Biomimetic Chemical Catalysts in the Oxidative Activation of Drugs. *Advanced Synthesis & Catalysis*, **2004**, *346*, 171-184.
- [6] Baleizão, C.; Garcia, H. Chiral Salen Complexes: An Overview to Recoverable and Reusable Homogeneous and Heterogeneous Catalysts. *Chemical Reviews*, **2006**, *106*, 3987–4043.
- [7] Zargar, V.; Asghari, M.; Dashti, A. A review on chitin and chitosan polymers: structure, chemistry, solubility, derivatives, and applications. *ChemBioEng Reviews*, **2015**, *2*, 204-226.
- [8] Ali, A.; Ahmed, S. A review on chitosan and its nanocomposites in drug delivery. *International Journal of Biological Macromolecules*, **2018**, *109*, 273–286.
- [9] Antony, R.; Arun, T.; Manickam, T.D. A review on applications of chitosan-based Schiff bases. *International Journal of Biological Macromolecules*, **2019**, *129*, 615-633.
- [10] Guibal, E. Heterogeneous catalysis on chitosan-based materials: a review. *Progress in Polymer Science*, **2005**, *30*, 71-109.
- [11] Yagub, M.T.; Sen, T.K.; Afroze E.S.; Ang, H.M. Dye and its removal from aqueous solution by adsorption: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, **2014**, *209*, 172– 184.
- [12] Sheldon, R. A. Metalloporphyrins in catalytic oxidations. New York: Marcel Dekker, 1994.
- [13] Costas, M. Selective C–H oxidation catalyzed by metalloporphyrins. *Coordination Chemistry Reviews*, **2011**, *255*, 2912-2932.
- [14] Pariyar, A.; Bose, S.; Biswas, A.N.; Barmanc, S.; Bandyopadhyay, P. A non-heme cationic Fe(III)-complex intercalated in montmorillonite K-10: synthesis, characterization and catalytic alkane hydroxylation with H₂O₂ at room temperature. *Catalysis Science & Technology*, **2014**, *4*, 3180-3185.
- [15] Bernhardt, P.V.; Lawrance, G.A. Complexes of polyaza macrocycles bearing pendent coordinating groups. *Coordination Chemistry Reviews*, **1990**, *104*, 297-343.
- [16] Weller, M.; Overton, T.; Rourke, J.; Armstrong, F. Química Inorgânica. 6ed; Ed Bookman; Rio de Janeiro, 2017.
- [17] Bornish, B.; Poon, C. K.; Tobe, M. L. Complexes of Cobalt(III) with a Cyclic Tetradentate Secondary Amine. *Inorganic Chemistry*, **1965**, *4*(8), 1102-1108.

- [18] Doro, F. G.; Ferreira, K. Q.; Rocha, Z. N.; Caramori, G. F.; Gomes, A. J.; Tfouni, E. The versatile ruthenium(II/III) tetraazamacrocyclic complexes and their nitrosyl derivatives. *Coordination Chemistry Reviews*, **2016**, 306(2), 652-677.
- [19] Nodzevska, A.; Wadolowska, A.; Watkinson, M. Recent advances in the catalytic oxidation of alkene and alkane substrates using immobilized manganese complexes with nitrogen containing ligands. *Coordination Chemistry Reviews*, **2019**, 382, 181-216.
- [20] Katsuki, T. Catalytic asymmetric oxidations using optically active (salen)manganese(III) complexes as catalysts. *Coordination Chemistry Reviews*, **1995**, 140, 189-214.
- [21] Erxleben, A. Transition metal salen complexes in bioinorganic and medicinal chemistry. *Inorganica Chimica Acta*, **2018**, 472, 40-57.
- [22] Gonsalves, A. A.; Araújo, C. R. M.; Soares, N. A.; Goulart, M. O. F.; Abreu, F. C. Diferentes estratégias para a reticulação de quitosana. *Química Nova*, **2011**, 34(7), 1215-1223.
- [23] Pakdel, P.M.; Peighambaroust, S.J. Review on recent progress in chitosan-based hydrogels for wastewater treatment application. *Carbohydrate Polymers*, **2018**, 201, 264-279.
- [24] Groosen, M. F. A. Applications of Chitan and Chitosan. CRC press. New York. 1996.
- [25] Neto, C. G. T.; Giacometti, J. A.; Job, A. E.; Ferreira, F. C.; Fonseca, J. L. C.; Pereira, M. R. Thermal analysis of chitosan based networks. *Carbohydrates Polymers*, **2005**, 62, 97-103.
- [26] Paulino, A. T. et al. Characterization of chitosan and chitin produced from silkworm crysalides. *Carbohydrate Polymers*, **2006**, 64, 98-103.
- [27] Saikia, G.; Ahmed, K.; Godoi, S. R.; Sharma, M.; Talukdar, H.; Islam, S. N. A chitosan supported peroxido vanadium(V) complex: Synthesis, characterization and application as an eco-compatible heterogeneous catalyst for selective sulfoxidation in water. *Polyhedron*, **2019**, 159, 192-205.
- [28] Abdulhameed, A. S.; Mohammad, A. T.; Jawad, A. H. Application of response surface methodology for enhanced synthesis of chitosan tripolyphosphate/TiO₂ nanocomposite and adsorption of reactive orange 16 dye. *Journal of Cleaner Production*, **2019**, 232, 43-56.
- [29] Rahmi; Ishmaturrehmi; Mustafa, I. Methylene blue removal from water using H₂SO₄ crosslinked magnetic chitosan nanocomposite beads. *Microchemical Journal*, **2019**, 144, 397-402.
- [30] Zanoni, M. V. B.; Yamanaka, H. Corantes: Caracterização química, toxicológica, métodos de detecção e tratamento. Ed. Cultura Acadêmica, 2016.
- [31] Zollinger, H. Color chemistry: syntheses, properties and applications of organic dyes and pigments. 2ed; Ed VCH; New York, 1991.
- [32] Santos, A. B.; Cervantes, F. J.; van Lier, J. B. Review paper on current technologies for decolourisation of textile wastewaters: Perspectives for anaerobic biotechnology. *Bioresource Technology*, **2007**, 98, 2369-85.
- [33] Metwally, M.A.; Khalifa, M.E.; Amer, F.A. New azodisperse dyes with 4- hydroxymethyl-2-pyrazolin-5-one ring for dyeing polyester fabrics, Part 5. *Dyes and Pigments*, **2008**, 76 (2), 379-85.

- [34] Holkar, C. R.; Jadhav, A. J.; Pinjari, D. V.; Mahamuni, N. M.; Pandit, A. B. A critical review on textile wastewater treatments: Possible approaches. *Journal of Environmental Management*, **2016**, 182, 351-366.
- [35] Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC). Agents Classified by the IARC. Disponível em: <https://monographs.iarc.fr/agents-classified-by-the-iarc/> (Acessado em 30 de maio de 2019).
- [36] International Agency for Research on Cancer (IARC). List of classifications. Disponível em: <https://monographs.iarc.fr/list-of-classifications-volumes/> (Acessado em 15 de junho de 2019).
- [37] Tsuboy, M.S.; Angelie J.P.F.; Mantovani, M.S.; Knasmüller, S.; Umbuzeiro, G. A.; Ribeiro, L. R. Genotoxic, mutagenic and cytotoxic effects of the commercial dye CI Disperse Blue 291 in the human hepatic cell line HepG2. *Toxicology in Vitro*, **2007**, 21 (8), 1650-1655.
- [38] Fernandes, F. H.; Bustos-Obregon, E.; Salvadori, D. M. F. Disperse Red 1 (textile dye) induces cytotoxic and genotoxic effects in mouse germ cells. *Reproductive Toxicology*, **2015**, 53, 75-81.
- [39] Brüscheiler, B. J.; Merlot C. Azo dyes in clothing textiles can be cleaved into a series of mutagenic aromatic amines which are not regulated yet. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **2017**, 88, 214-226.
- [40] Fernandes, F. H.; Umbuzeiro, G. A.; Salvadori, D. M. F. Genotoxicity of textile dye C.I. Disperse Blue 291 in mouse bone marrow. *Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. **2019**, 837, 48-51.
- [41] Umbuzeiro, G. A.; Freeman, H.; Warren, S. H.; Kummrow, F.; Claxton, L. D. Mutagenicity evaluation of the commercial product CI Disperse Blue 291 using different protocols of the Salmonella assay. *Food and Chemical Toxicology*, **2005**, 43, 49–56.
- [42] Instituto Nacional de Câncer (INCA). Tipos de câncer: Câncer de bexiga. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/cancer-de-bexiga> (Acessado em 7 de junho de 2019).
- [43] Hunger, K. On the toxicology and metabolism of azo dyes. *Chimia*, **1994**, 48 (11), 520-522.
- [44] Hodges, G. R.; Smith, J. R. L.; Oakes, J. The oxidation of azo dyes by peroxy acids and tert-butyl hydroperoxide in aqueous solution catalysed by iron(III) 5,10,15,20-tetra(2,6-dichloro-3-sulfonatophenyl)porphyrin: product studies and mechanism. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, **1999**, 1943–1952.
- [45] Phillipson, C. E.; Ioannides, C. Activation of aromatic amines to mutagens by various animal species including man. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, **1983**, 124 (3-4), 325-336.
- [46] Jaypal, M.; Jagadeesan, Hema.; Shanmugam, M.; Danisha J, P.; Morugesan, S. Sequential anaerobic-aerobic treatment using plant microbe integrated system for degradation of azo dyes and their aromatic amines by-products. *Journal of Hazardous Materials*, **2018**, 354, 231-243.
- [47] Morales, G.; Pajares, A.; Natera, J.; Escalada, J. E.; Massad, W.; García, N. A. The riboflavin-photosensitized degradation of the uv-absorbing azo dye-metabolites Benzidine

and o-Tolidine. Kinetic and mechanistic aspects. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **2017**, 344, 49-55.

[48] Mac Leod, T. C. O. Metaloporfirinas e compostos salen como modelos biomiméticos do CYP450 no metabolismo de fármacos anticonvulsivante e antidepressivo. Tese de doutorado. USP, Ribeirão Preto, SP, Brasil, 2008.

[49] Frois, S. R. Utilização de fases minerais direcionadas para concentração e especiação de íons Cr(III) e Cr(VI). Dissertação de Mestrado. UFPR, Curitiba, PR, Brasil, 2010.

[50] Kadwa, E.; Friedrich, H. B.; Bala, M. D. Base metal Schiff base complexes applied as catalysts for the oxidation of n-octane. *Inorganica Chimica Acta*, **2017**, 463, 112–117.

[51] Santos, M. L. J. ; Doro, F. G. ; Barros, V. P. . Complexo Cis[FeCl₂(cyclam)]Cl como catalisador para reações de oxidação do azo corante Disperse Orange 3. In: VIII Encontro Estadual de Química, 2016, Itabaiana. VIII Encontro Estadual de Química, **2016**

[52] Andrade, A. K. S. ; Barros, V.P. . Oxidação do corante Acid Red 8 catalisada por um complexo heme do tipo Mn-Salen. In: VIII Encontro Regional de Química da SBQ-NE e X Encontro Estadual de Química, 2018, Itabaiana. Encontro Estadual de Química, **2018**

[53] Barros, V. P. ; Santos, M. L. J. . Uso de modelos citocromo P450 na oxidação de produtos naturais e fármacos. In: 26º Encontro de Iniciação Científica, 2016, São Cristóvão. 26º Encontro de Iniciação Científica, **2016**.

[54] Kumar, S.; Koh, J. Physiochemical, Optical and Biological Activity of Chitosan-Chromone Derivative for Biomedical Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, **2012**, 13(5), 6102-6116.

[55] Queiroz, D.C. e Craveiro, A.A. Novo processo de obtenção de quitosana a partir de carapaças de crustáceos. Patente brasileira, PI 9800375-5A. **1998**.

[56] Costa Jr., E. S.; Mansur, H. S. Preparação e caracterização de blendas de quitosana/poli(álcool vinílico) reticuladas quimicamente com glutaraldeído para aplicação em engenharia de tecido. *Química Nova*, **2008**, 31(6), 1460-1466.

[57] Mac Leod, T. C. O.; Palaretti, V.; Barros, V. P.; Faria, A. L.; Silva, T. A.; Assis, M. D. Jacobsen catalyst immobilized on chitosan membrane as interface catalyst in organic/aqueous system for alkene oxidation. *Applied Catalysis A- General*, **2009**, 361, 152-159.

[58] Sankalia, M. G.; Mashru, R. C.; Sankalia, J. M.; Sutariya, V. B. Reversed chitosan–alginate polyelectrolyte complex for stability improvement of alpha-amylase: Optimization and physicochemical characterization. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. **2007**. 65, 215–232.

[59] Lawrie *et al.*, 2007 Lawrie, G.; Keen, I.; Drew, B.; Chandler-Temple, A.; Rintoul, L.; Fredericks, P.; Grøndahl, L. Interactions between alginate and chitosan biopolymers characterized using FTIR and XPS. *Biomacromolecules*. **2007**. 8, 2533-2541.

- [60] Perez, F. O. Estudo da dissociação de ibuprofeno utilizando matrizes de quitosana e montmorilonita/quitosana. Tese de doutorado. IQSQ-USP, São Carlos, SP, Brasil, **2014**.
- [61] Mauricio-Sánchez, R. A.; Salazar, R.; Luna-Bárceñas, G.; Mendonza-Galván, A. FTIR spectroscopy studies on the spontaneous neutralization of chitosan acetate films by moisture conditioning. *Vibrational Spectroscopy*. **2018**, 94, 1-6.
- [62] Pontes, D. L.; Moreira, I. S. Estudo de complexos de ferro-cyclam com ligantes carboxilados e polinitrilados. 2008. 162 f. Tese (Doutorado em Química Orgânica). Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, 2008.
- [63] Zohuriaan, M.J; Shokrolahi, F. Thermal studies on natural and modified gums. *Polymer Test*. **2004**, 23, 575-579.
- [64] C. S. Luz, R. D. S.; Paixão, M. V. G.; Balaban, R. C. Nanosilica-chitosanhybridmaterials: Preparation, characterization and application in aqueous drilling fluids. *Journal of Molecular Liquida*. **2019**, 279, 279-288.
- [65] Skoog, D. A.; West, D. M.; Holler, F. J.; Crouch, S. R. et al. Fundamentos de química analítica. São Paulo: Thomson Learning, **2006**.
- [66] Netpradit, S.; Thiravetyan, P.; Towprayoon, S. Application of waste metal hydroxide sludge for adsorption of azo reactive dyes. *Water Research*. **2003**, 37, 763-772.
- [67] Belskaya, N. P.; Dehaen, W.; Bakulev, V. A. Synthesis and properties of hydrazones bearing amide, thioamide and amidine functions. *Arkivoc*. **2010**, 2010, 275-332.
- [68] Mitrović, J.; Radović, M.; Bojić, D.; Anđelković, T.; Purenović, M.; Bojić, A. Decolorization of the textile azo dye Reactive Orange 16 by the UV/H₂O₂ process. *Journal of the Serbian Chemical Society*. **2012**, 77, 4, 465-481.
- [69] Barros, V. P. ; Assis, M. D. Iron Porphyrins as Biomimetic Models for Disperse Azo Dye Oxidation. *Journal of the Brazilian Chemical Society* (Impresso). **2013**, 24, 830-836.
- [70] Chowdhury, A. N. Oxidative and antibacterial activity of Mn₃O₄. *Journal of Hazardous Materials*. **2009**, 172, 1229-1235.
- [71] Sartori, R. A.; Morais, L. C.; Consolin-Filho, N. Adsorção do corante azul de metileno em partículas de argilominerais: análise dos tamanhos das partículas. *Química Nova*. **2011**, 34(4), 584-588.
- [72] Neumann, M. G.; Gessner, F.; Cione, A. P. P.; Sartori, R. A.; Cavaleiro, C. C. S. Interações entre corantes e argilas em suspensão aquosa. *Química Nova*, **2000**, 23(6), 818-824.
- [73] Mattos, I. L.; Shiraishi, K. A.; Braz, A. D.; Fernandes, J. R. Peróxido de hidrogênio: importância e determinação. *Química Nova*. **2003**, 26(3), 373-380.
- [74] Lyakin, O. Y.; Bryliakov, K. P.; Talsi, E. P. Non-heme oxoiron(V) intermediates in chemo-, regio- and stereoselective oxidation of organic substrates. *Coordination Chemistry Reviews*. **2019**, 384, 126-139.
- [75] Egekenze, R. N.; Gultneh, Y.; Butcher, R. Mn(III) and Mn(II) complexes of tridentate Schiff base ligands; synthesis, characterization, structure, electrochemistry and catalytic activity. *Inorganica Chimica Acta*. **2018**, 478, 232-242.

[76] Zhu, M. Degradation of methylene blue with H₂O₂ over a cupric oxide nanosheet catalyst. *Chinese Journal of Catalysis*. **2013**, 34, 2125-2129.